L'APICULTURE VUE AU MICROSCOPE





DIFFERENTS MODES D'OBSERVATION

Observation macroscopique Jusqu'à 1 mm ou 0,5 mm = limite de l'acuité visuelle



augmentée par un objectif macro monté sur un appareil photo

Loupe grossissement = 6 X

Loupe binoculaire oculaire X 10 et X2<objectif < X 4 =20 X <grossissement <40 X

Microscope optique oculaire X10 et X10<objectif <X100 =100 X <grossissement <1 000 X

Microscope électronique (1930) à balayage MEB ou à transmission MET = grossissement 2 000 000 X



Loupe binoculaire XVI ième siècle Microscope XVII ième siècle





Utilisation de la lumière: microscope photonique

2 lentilles: objectif x100 et oculaire x10



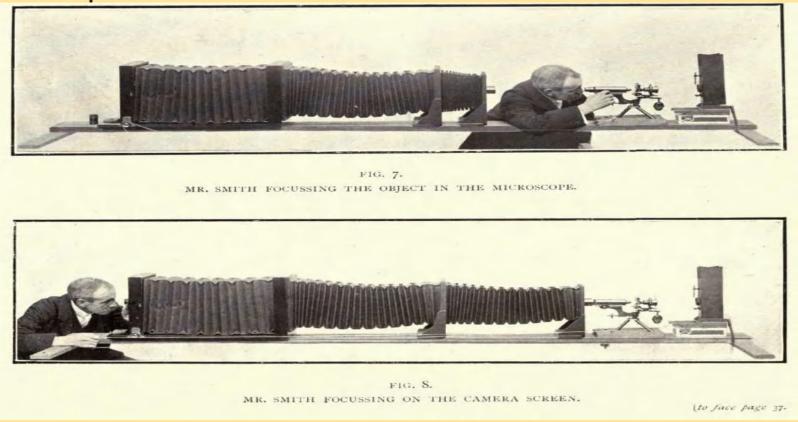
Microscope optique

- ❖ Des techniques permettent de s'approcher de la résolution de 0,2μm qui est la limite de diffraction de la lumière → utilisation d'un objectif à immersion (huile).
- Le microscope optique permet de visualiser des objets vivants (bactéries, levures, champignons microscopiques, organismes unicellulaires) ou fixés (coupes de tissus) à l'échelle cellulaire.
- Les objets illuminés deviennent très clairs et il est souvent nécessaire de procéder à des colorations des tissus afin de les observer.

En 1909 l'anglais Arthur E Smith a publié un livre intitulé « Nature through Microscope & Camera » qui présentait des photos de microphotographie qu'il avait réalisé en assemblant un microscope et un appareil photo.

Il utilisait une chambre photographique et prenait ses photos sur des plaques sensibles de 20x25cm, le fait de faire la mise au point sur le microscope lui imposait des temps de poses de plusieurs minutes

Grossissements pouvant atteindre 2000 X



MICROSCOPE OPTIQUE - PHOTONIQUE - ELECTRIQUE





MICROSCOPE ELECTRONIQUE (1930)



Résolution = 0,2 nm Grossissement =100.000 X



06/05/2015

MET

Les électrons traversent l'échantillon

MEB

Les électrons balayent la surface et sont réfléchis



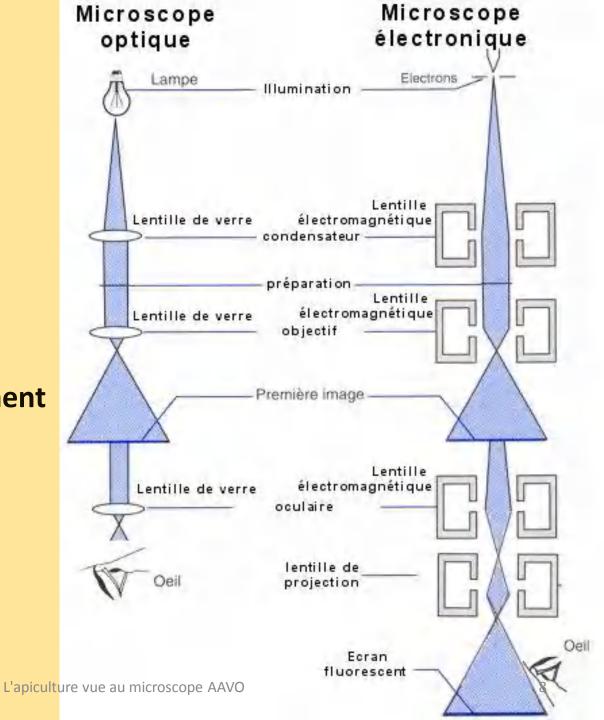
Les électrons sont facilement absorbés par la matière

⇒ vide d'air

L'œil ne perçoit pas les électrons

projection sur écran

fluorescent 06/05/2015



ECHELLE

fourmi + 1 cm

grain de sable 1 mm

1 mm

cheveux 50 à 100 µm

globule rouge 8 μm particule de fumée 4 μm 0,01 mm

0,1 mm

1 micron (μm)= 0,001 mm

10^-3 mm

virus 70 nm

protéïne acide aminé 0,01 µm

0,1µm

1 nanamätra (nm) —

1 nanomètre (nm) = 0,001 μm 10^-6 mm

Atomes de 1 à 3 Å

0,1 nm ou 1 Angström

Les débuts de l'observation de l'abeille au microscope optique

Marcello Malpighi (1628-1694) physicien, anatomiste, physiologiste et microscopiste italien.

→ traité sur l'anatomie des insectes où il décrit les tubes de Malpighi, qui ont une fonction d'épuration comme le rein chez l'homme.

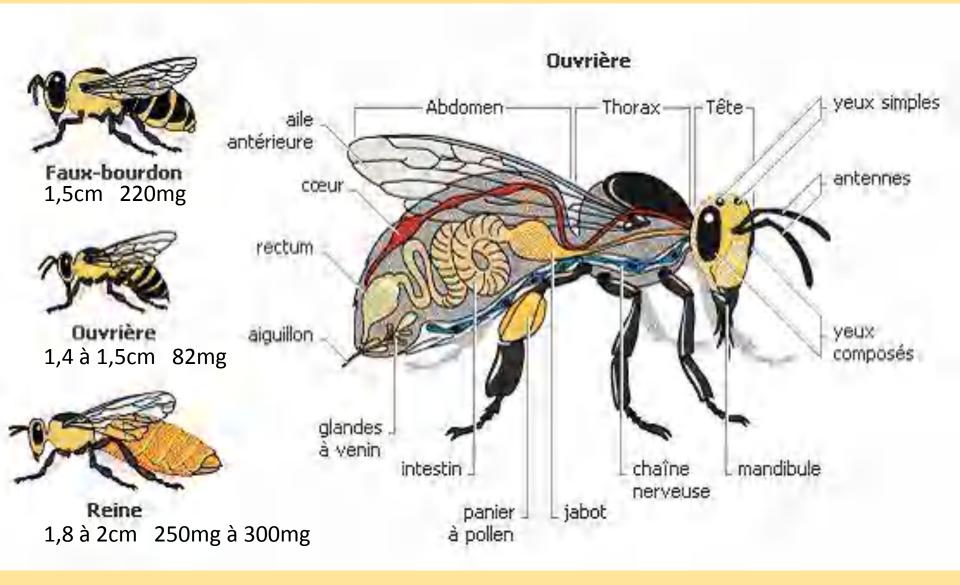
Anton von Leeuwenhoek (1632-1723) naturaliste hollandais,

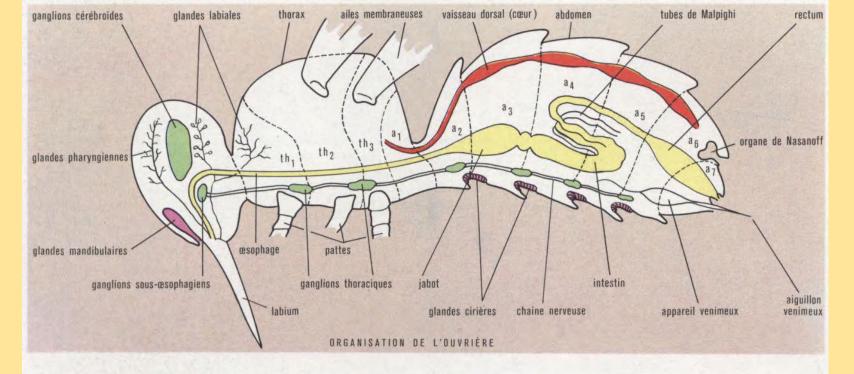
développa la conception du microscope.

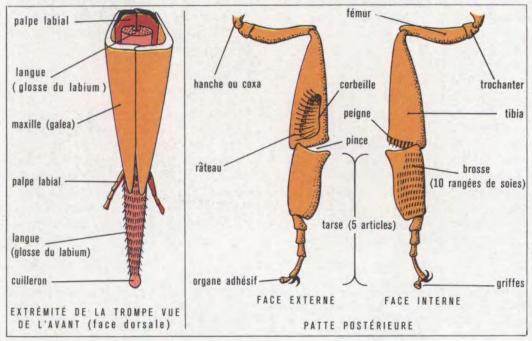
En 1673, il envoya sa première lettre à la *Royal Society of London* sur ses observations sur le dard des abeilles et sa tête, et en particulier sa bouche.

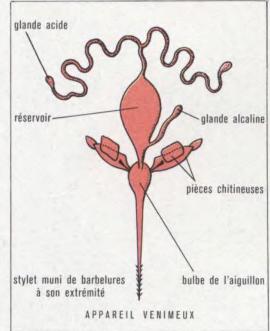
Robert Hooke (1635-1703) célèbre pour son livre *Micrographie*. Si l'invention du microscope composé de lentilles multiples reviendrait à <u>Zacharias Janssen</u> en 1590, Robert Hooke y a décrit l'aiguillon de l'abeille.

APIS MELLIFERA







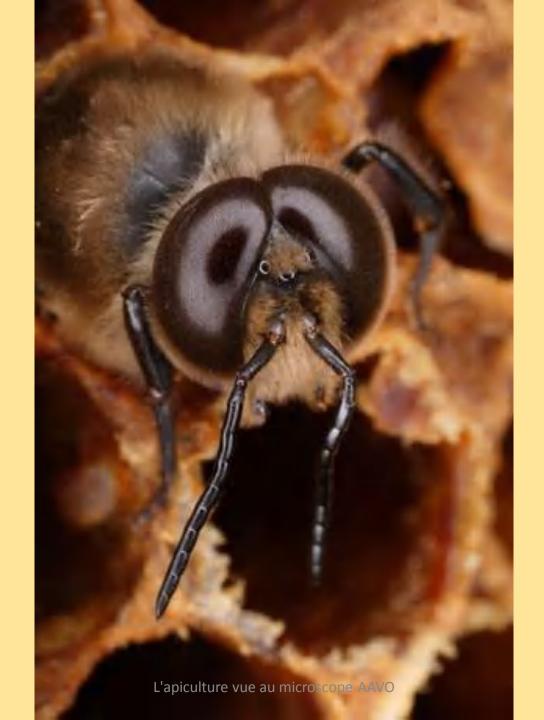






Ocelles Yeux simples pour vision de près et appréciation de la luminosité Une lentille biconvexe + corps vitré + une rétine Œil composé **4000** ommatidies ♀ Tête d' Abeille *5000 ommatidies* ♀ reine **8000** ommatidies β Antenne Labre · Mandibules Mandibule Maxilles-**Puissantes pour** Palpes labiaux la préhension de Langue matières solides, Max + palpes + langue Le travail de la Repliés sous la tête au repos et cire et de la étendus quand elle prélève du liquide propolis et la → trompe Type broyeur-lécheur défense contre les ennemis 06/05/20 Ilture vue au microscope AAVO







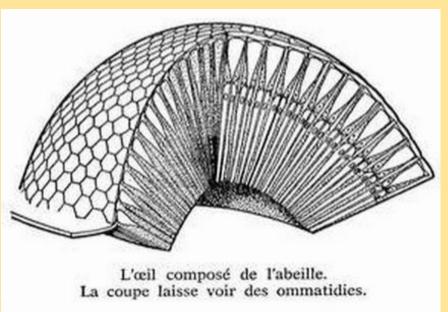


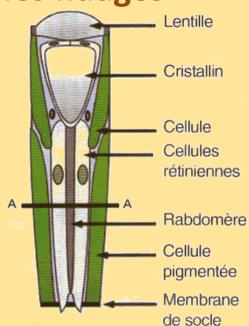
Les yeux composés d'apis mellifera

Chaque ommatidie = cornée(lentille convergente) + cristallin conique + rétinule composée de 8 cellules sensibles à la lumière

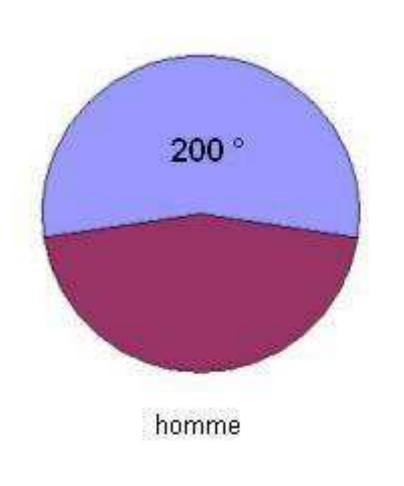
Mesure angles, appréciation des distances et de la vitesse Récepteurs sensibles à la lumière polarisée

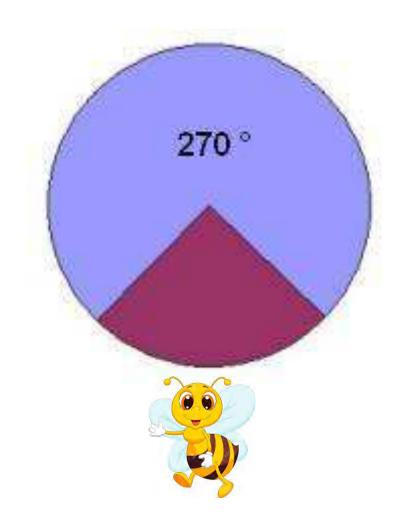
repérage quand le soleil est derrière les nuages





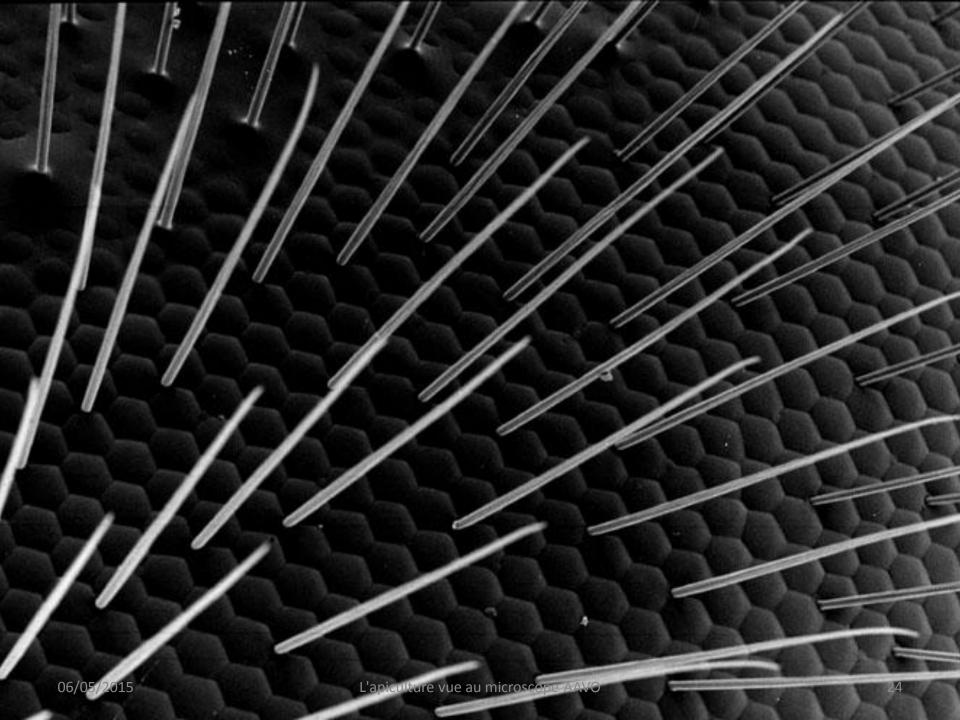
Le champ visuel

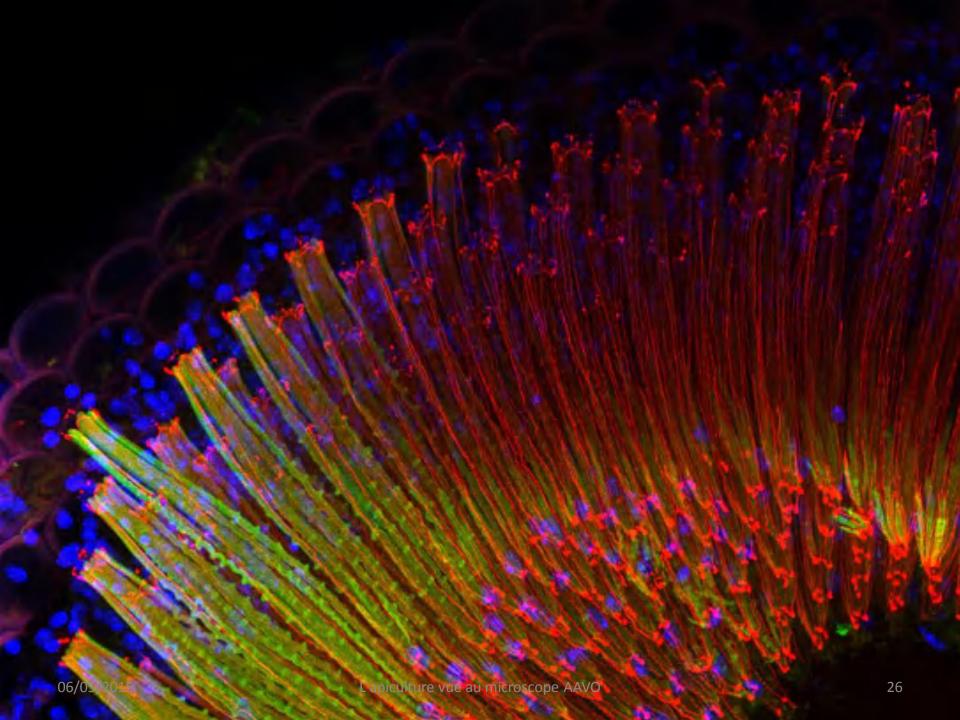


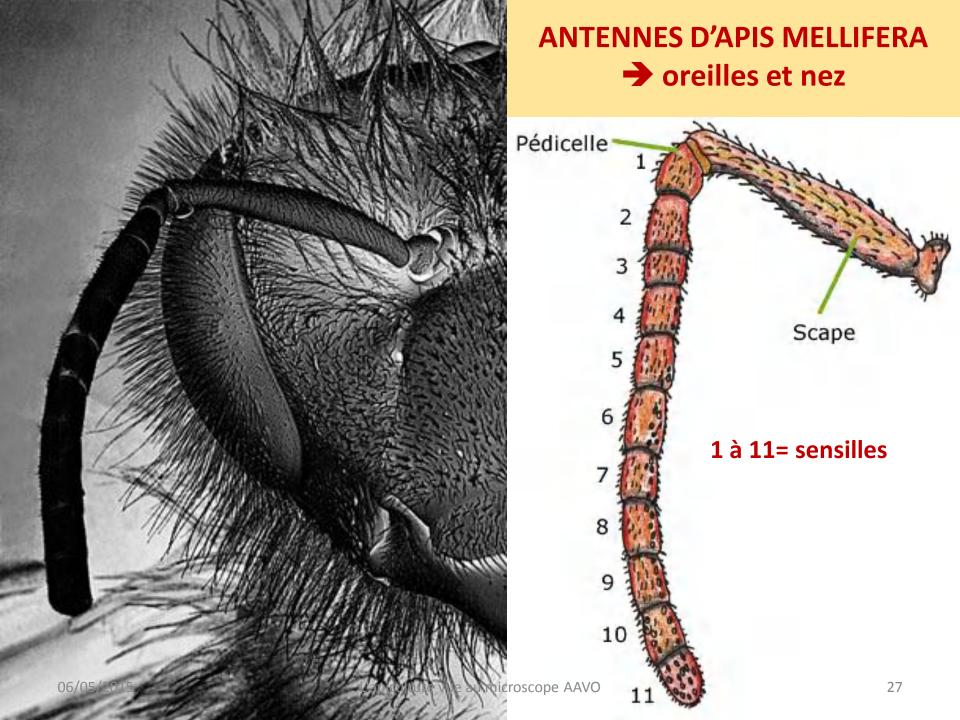












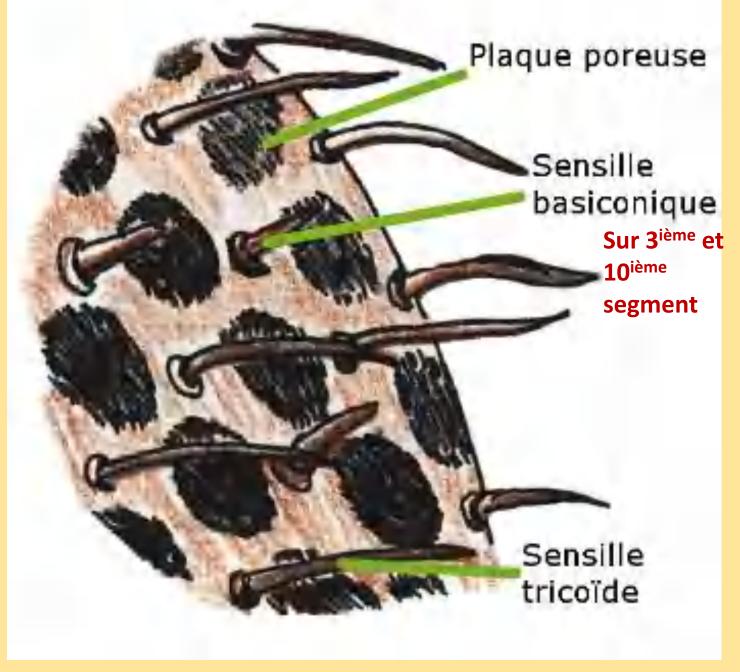
Les antennes d'apis mellifera

8500 sensilles trichoïdes par antenne pour la perception des odeurs et des (sons) vibrations

Les odeurs sont captées par des plaques poreuses ouvrière = 3 000 à 6 000 reine = 3 000 mâles = 30 000



Sensilles antennaires d'une abeille vues au microscope électronique à balayage. Les antennes de l'abeille sont déterminantes pour sa perception de l'environnement (olfactif, tactile, chimique...).

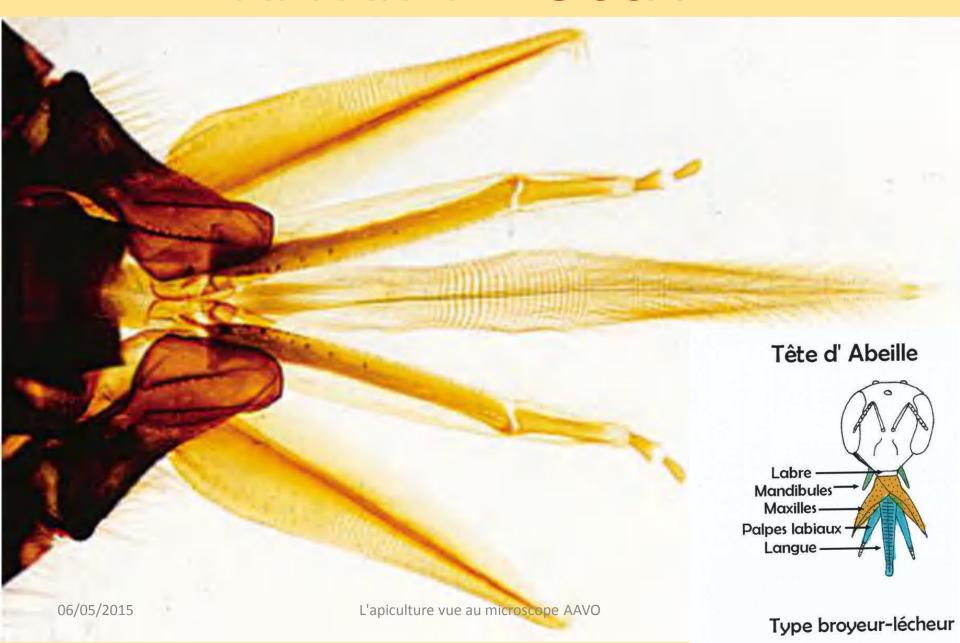








APPAREIL BUCCAL





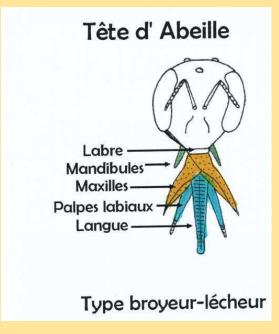




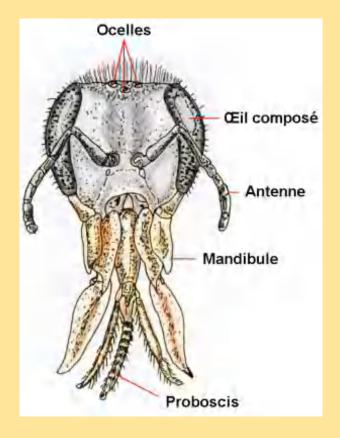
L'apiculture vue au microscope AAVO

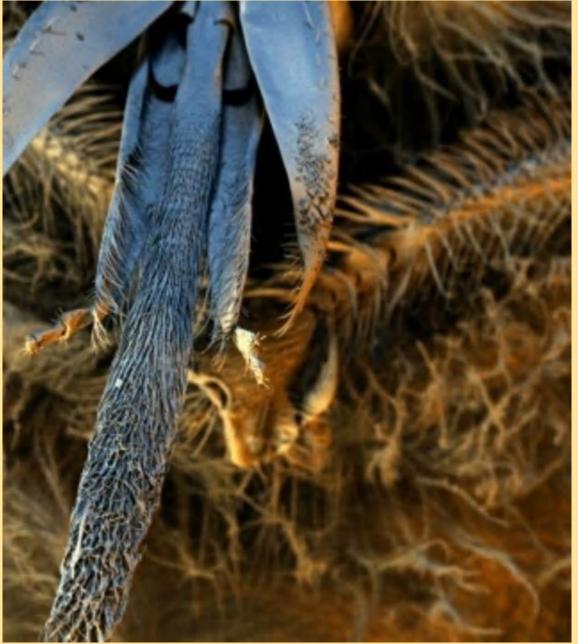


PAIRE DE MANDIBULLES ET TROMPE









06/05/2015

L'apiculture vue au microscope AAVO

APPAREIL BUCCAL

Dans cet organe de 6,5 mm coulisse une langue de 2 mm, sorte de cuillère effilée que l'abeille fait pénétrer jusqu'au fond de la fleur pour y aspirer à petites lampées le nectar.



LANGUE



La pilosité de la langue à son extrémité en forme de cuillère (cuilleron) permet de recueillir de petits volumes de liquide qui montent par capillarité jusqu'à la gouttière linguale.

Si l'abeille ouvre sa gouttière linguale, elle peut offrir à ses compagnes, le contenu de son jabot.

Le mâle a une langue plus courte, le butinage est plus difficile.



Les pattes

Pattes antérieures : elle se peigne, se nettoie les yeux et les antennes.

Pattes médianes et postérieures : elle nettoie les flancs de son corps ainsi que le ventre.

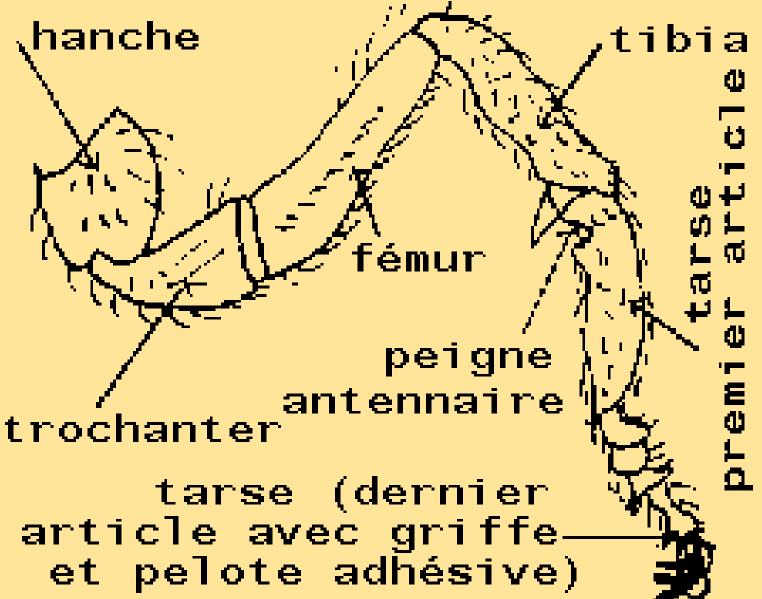
Pour le reste du corps, elle fait appel à ses sœurs. Après chaque sorties, l'abeille butineuse fait sa toilette et par des tremblements de tout son corps, elle attire ses sœurs qui s'empressent de la nettoyer avec leurs mandibules.

Pattes postérieures : instruments spécialisés pour la récolte du pollen.

Le pollen étant sous forme de poudre, afin de le rendre collant elle humecte celui-ci avec du miel ingurgité avant l'envol. Elle utilise la brosse à pollen pour récupérer la poudre de pollen restée attachée à son corps pendant la récolte. Par la suite, avec le peigne situé à l'articulation du tibia et du premier article du tarse elle le pousse dans la corbeille à pollen qui est une dépression située à la base du tibia. A l'intérieur de la corbeille, se trouve un poil unique qui fait office de mât et c'est sur celui-ci que vient se fixer la pelote de pollen .

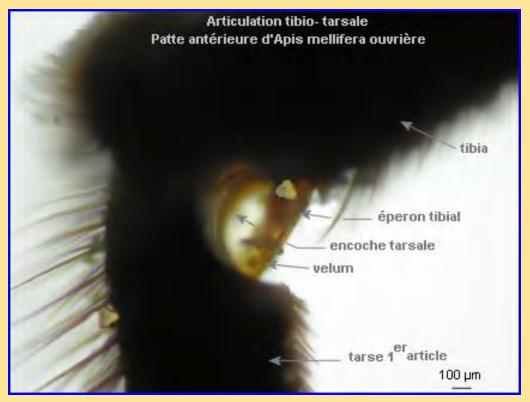
Durant toutes ces opérations, si c'est la patte droite qui se rempli, les ustensiles utilisés sont ceux de la patte gauche et vise versa.

Les pattes antérieures

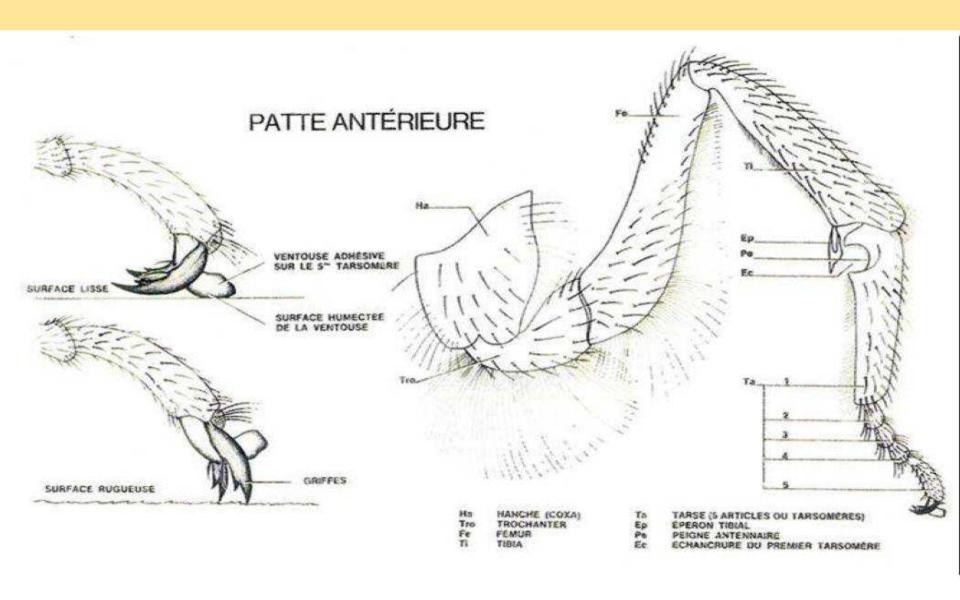


Patte antérieure

Au niveau de l'articulation tibio-tarsale se trouve un dispositif « peigne antennaire » constitué par une encoche tarsale (avec cils) et l'ensemble tibia éperon + velum peut fermer l'échancrure. Utilisation pour le brossage et nettoyage des antennes ce qui permet de retenir un peu de pollen.



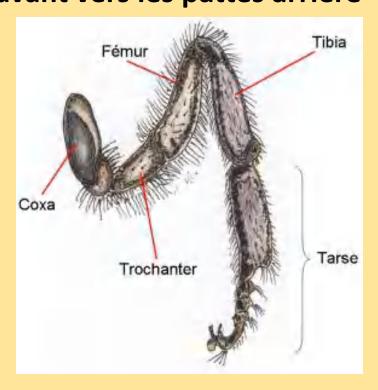


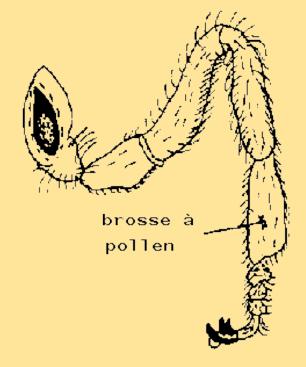


Les pattes médianes

Les pattes médianes sont utilisées pour nettoyer le thorax des poussières et du pollen. Toutefois, une abeille ne peut se nettoyer le sommet du segment médian du thorax. Ceci doit être fait pour une autre abeille, après retour à la ruche.

Elles permettent également de transférer des matériaux des pattes avant vers les pattes arrière

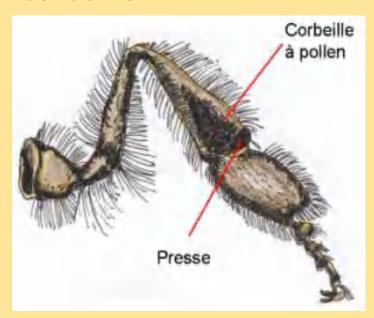


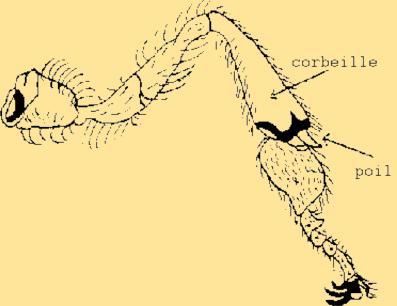


Patte postérieure

A la face extérieure de la patte postérieure, on peut observer la corbeille à pollen, dans laquelle le pollen est transporté. La corbeille est pourvue de poils sur le pourtour et d'un poil raide central sur lequel le pollen ou la propolis peut être accroché.

La presse pousse et maintient le pollen à l'intérieur de la corbeille





PATTES POSTERIEURES

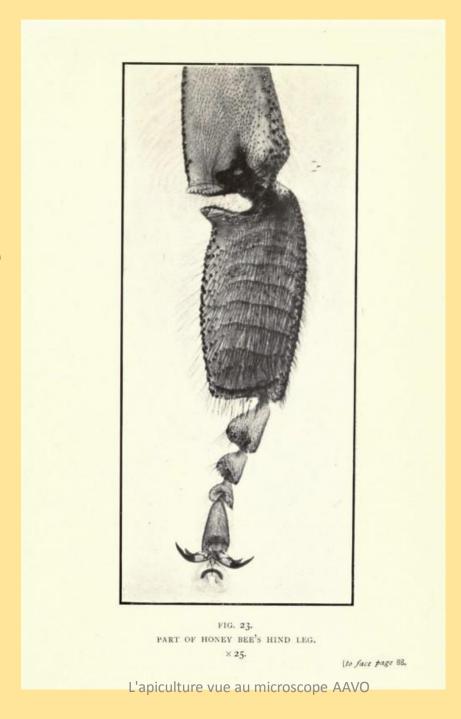
Les glandes cirières situées en dessous de l'abdomen secrètent des plaques de cire qui sont embrochées par la broche (éperon)du talon des pattes postérieures.

Elles sont ensuite enlevées par les pattes antérieures et travaillées avec les mandibules

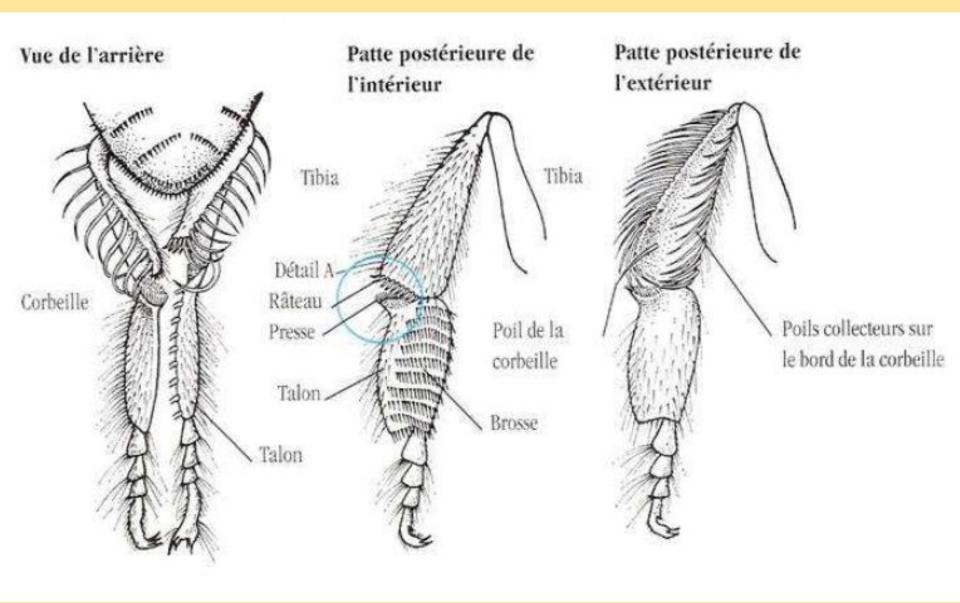




Patte postérieure





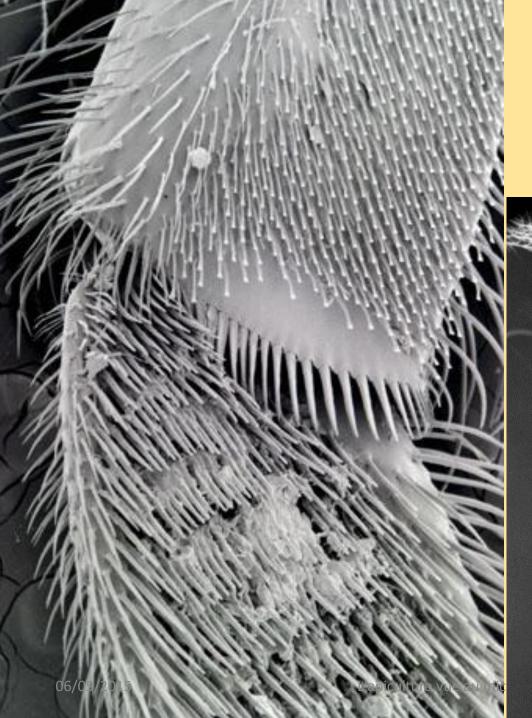


Patte postérieure

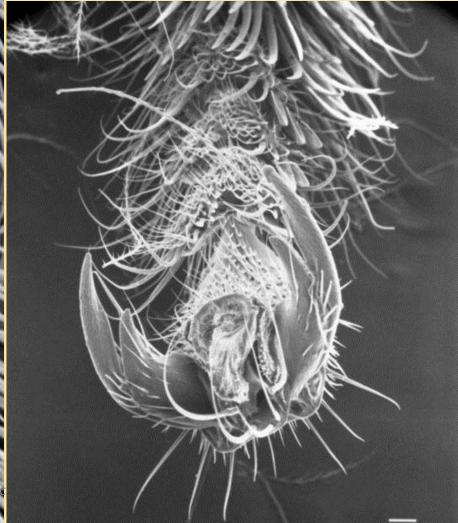


Patte postérieure de l'abeille





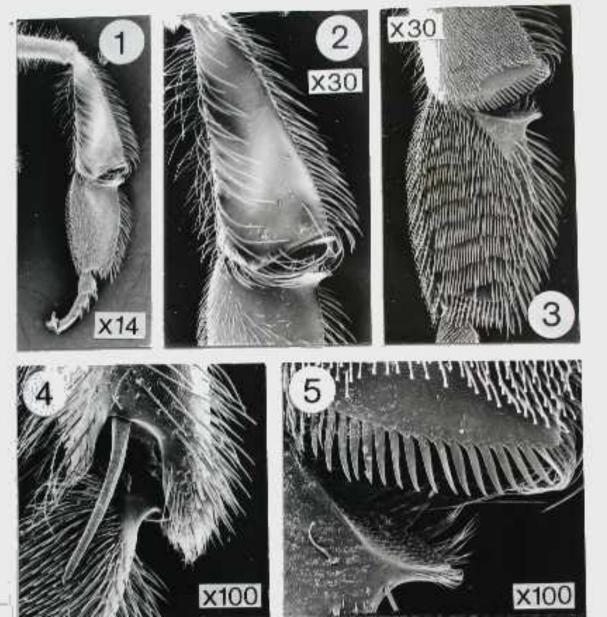
PATTE ANTERIEURE ARTICULATION ET GRIFFE TERMINALE



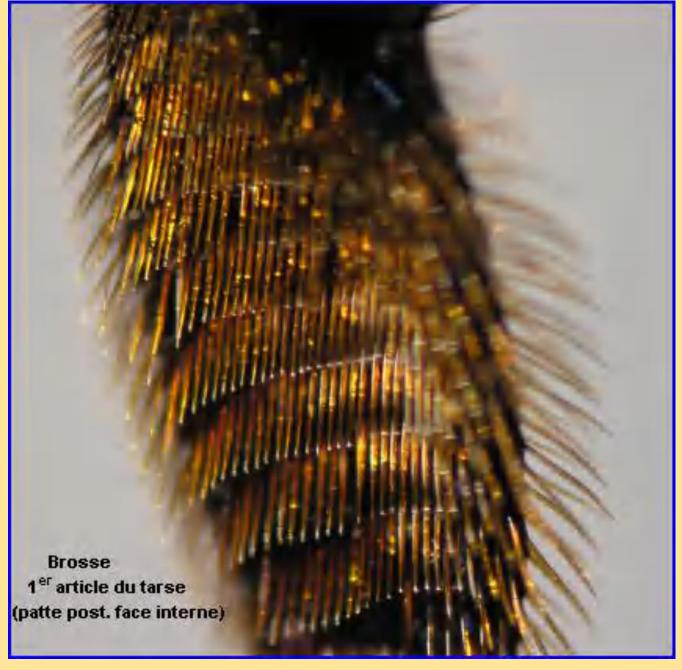
2 paires de Griffes mobiles pouvant se replier pour laisser apparaitre le Coussinet qui adhère aux surfaces lisses et transmet des phéromones.



Patte potérieure d'Abeille 1:Vue d'ensemble, 2: Corbeille à pollen, 3: Face interne de la patte, 4 :Eperon sur patte droite, 5: Râteau et presse à pollen



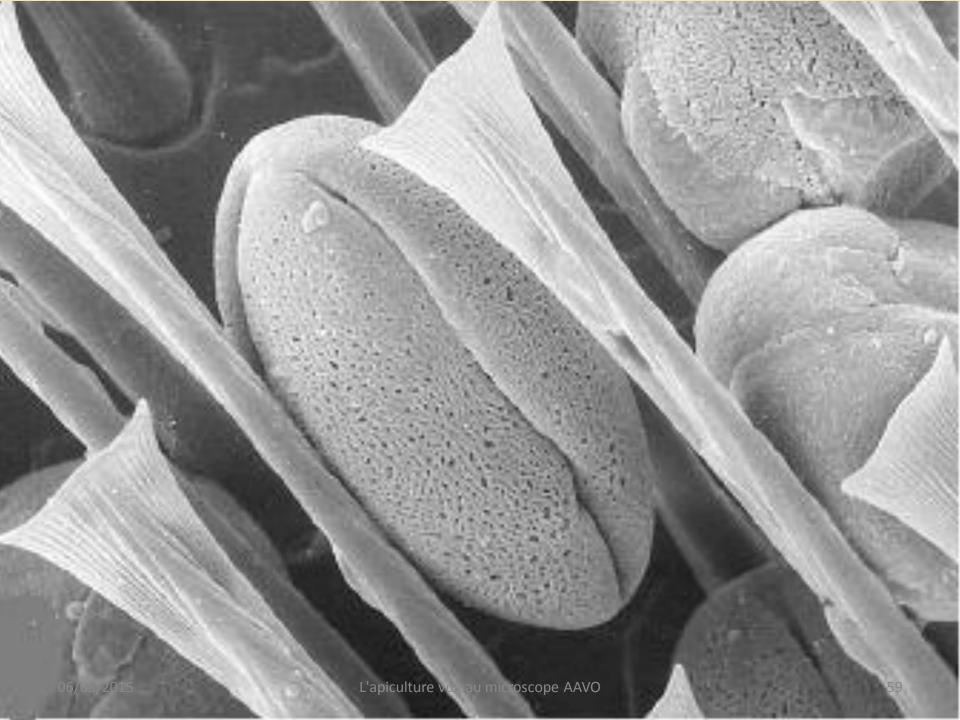
06/05/2015 L'apiculture vue au microscope AAVO



Detailled view of the posterior leg basitarus (internal view) of a honney bee (Apis mellifera) worker. This part is called the "pollen brush" and is used to "brush" the pollen from the whole body. At the extremity of the tibia you can also see the "rastellum" that is used collect the pollen from the pollen brush and to transfer it to the pollen press (articulation between the tibia and basitarsus).







LES AILES DE L'ABEILLE

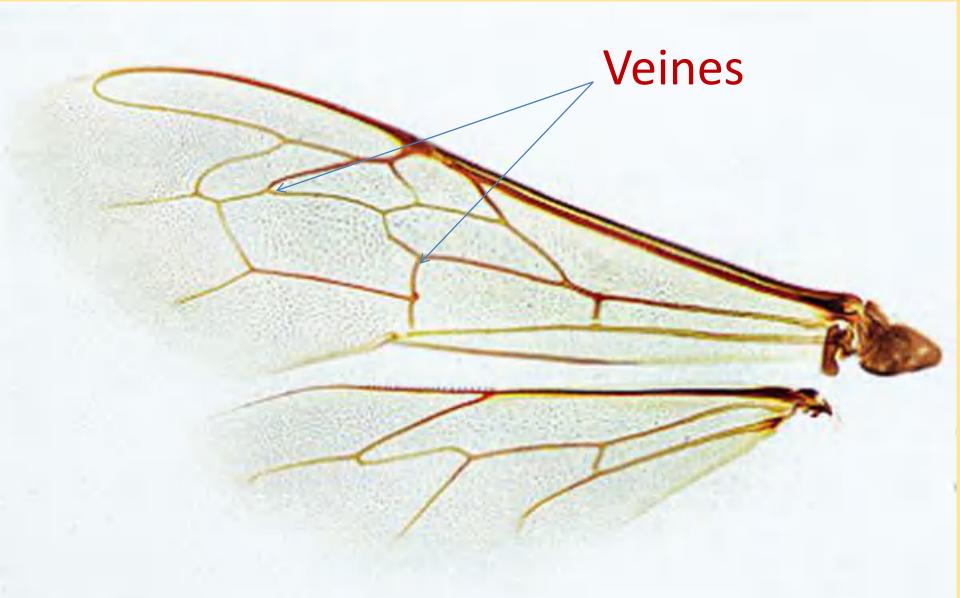
Les ailes ont comme principale fonction la locomotion aérienne de l'abeille. Elles servent aussi à l'aération de la ruche et à la dissémination de phéromones, d'alarme ou de reconnaissance.

Performances du vol de l'abeille

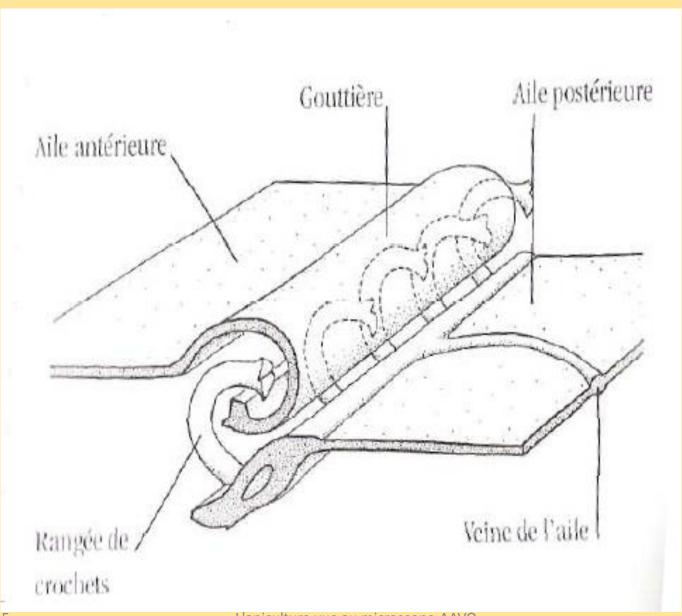
Nombre d'ailes	4
Vitesse moyenne	20-30 km/h
Vitesse de pointe	60 km/h
Consommation moyenne	2-24 mg sucre/heure 9 mg glycogène/minute
Nombre de battements	400-500 battements/s
Distance de butinage moyenne	1500 m
Distance max de butinage	10-12 km
Altitude de vol	10-30 m
Tare	40 mg nectar – 30 mg pollen ou 75 mg de pollen
Consommation	< 1,5 mg glucose/min
Durée de vie des muscles alaires	800 km



Une paire d'aile côté gauche au microscope optique



SYSTEME D'ARRIMAGE ENTRE L'AILE ANTERIEURE ET L'AILE POSTERIEURE



20 CROCHETS AU
BORD DE
CHAQUE AILE
POSTERIEURE



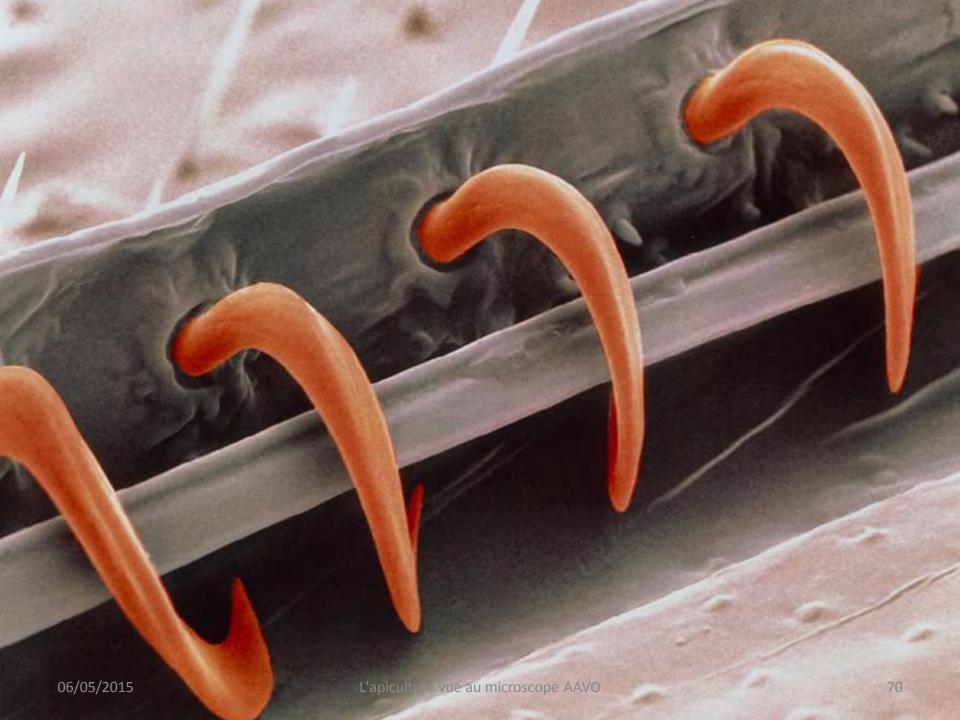










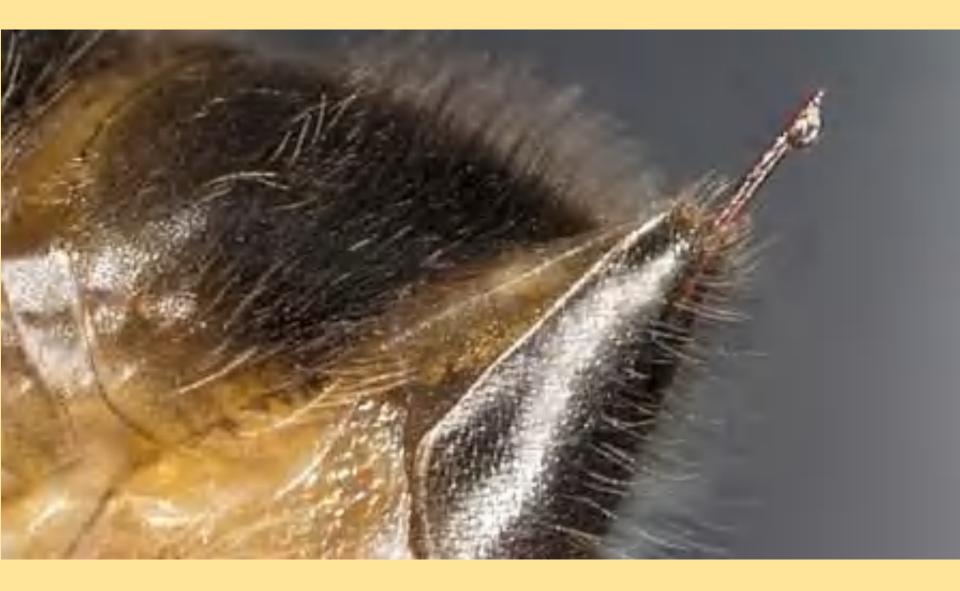


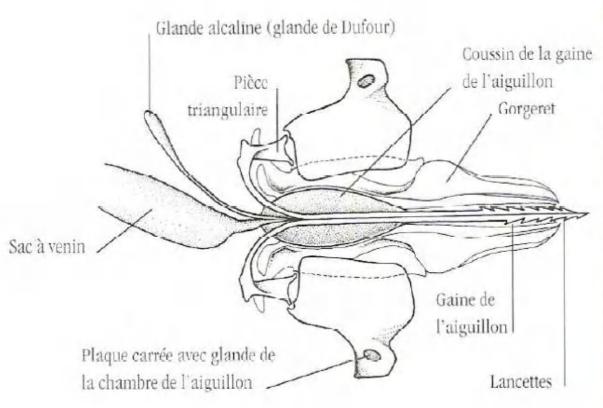


- > Le dard de l'ouvrière possède des crochets qui se détache et conduit à sa mort
- Le dard de la reine ne possède pas de crochet et ne reste pas pris dans la peau d'un animal lors d'une piqûre, ce qui lui évite de mourir.
- > Le mâle n'a pas de dard, il ne pique pas



AIGUILLON DE L'ABEILLE



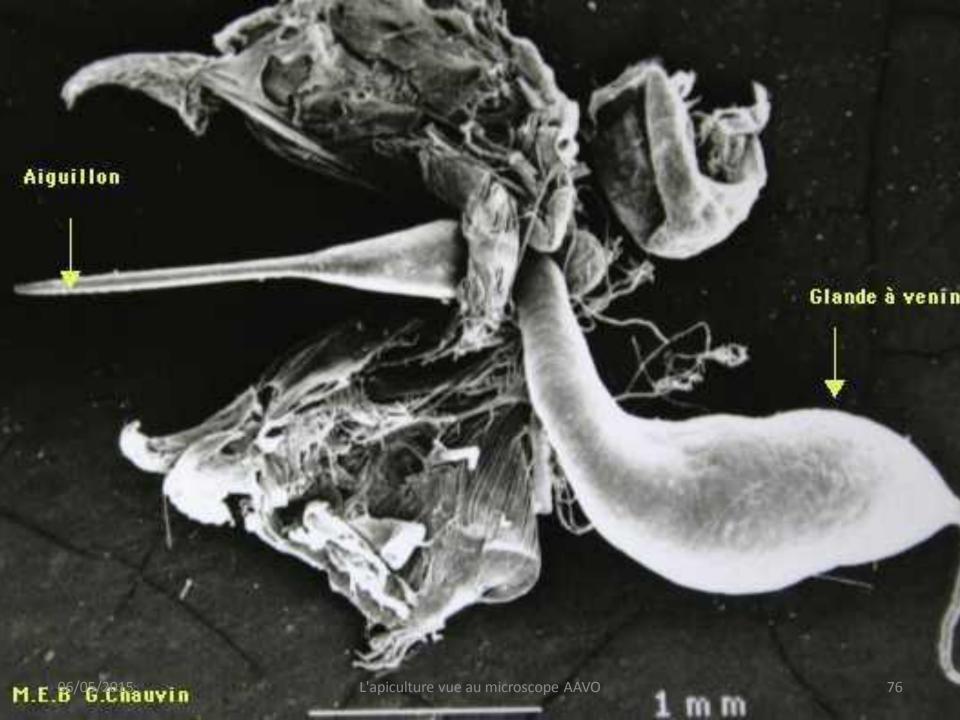




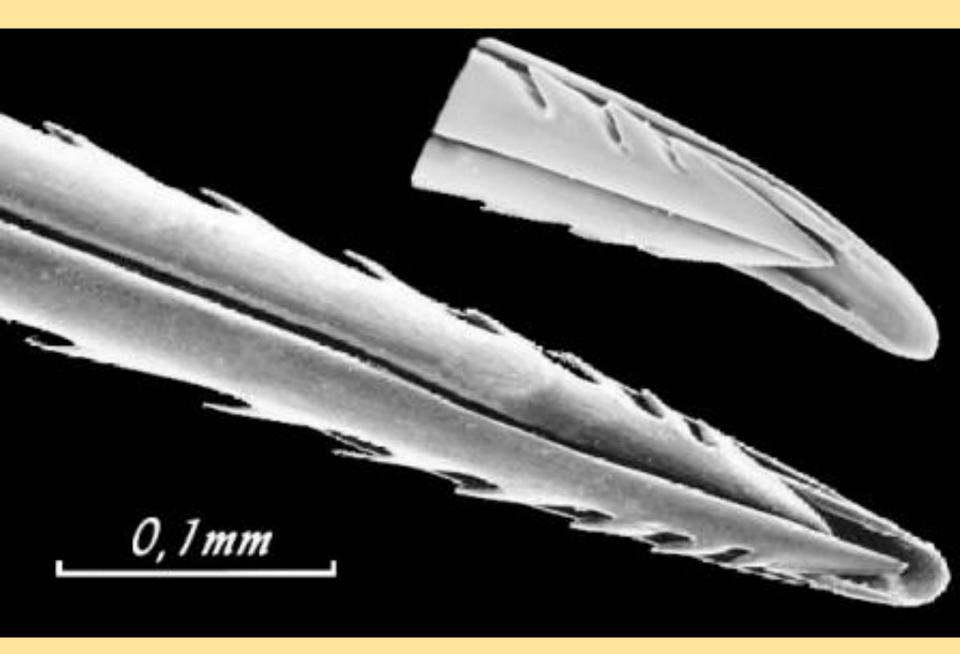


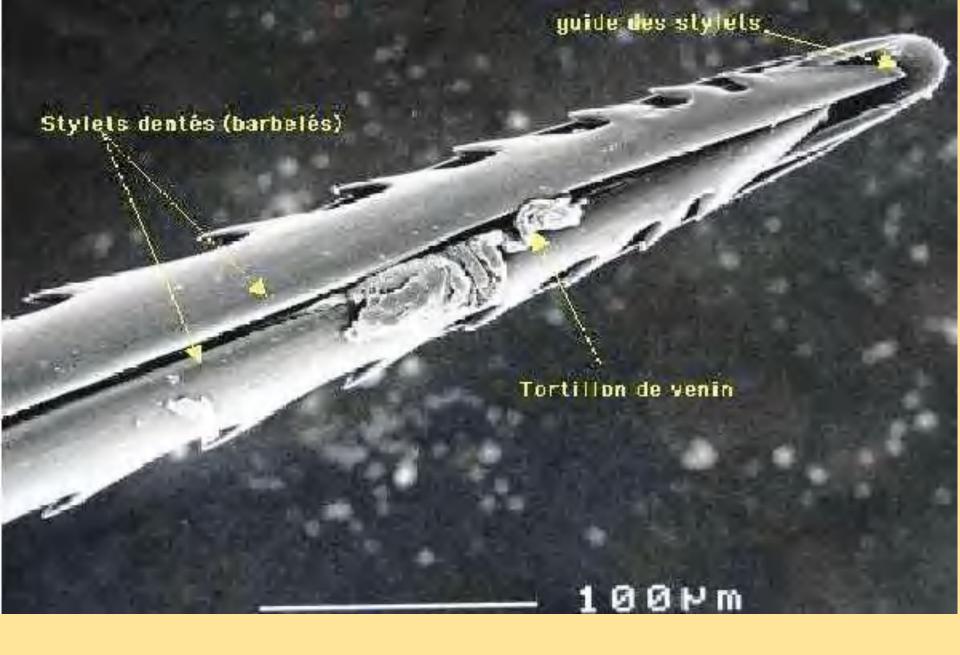


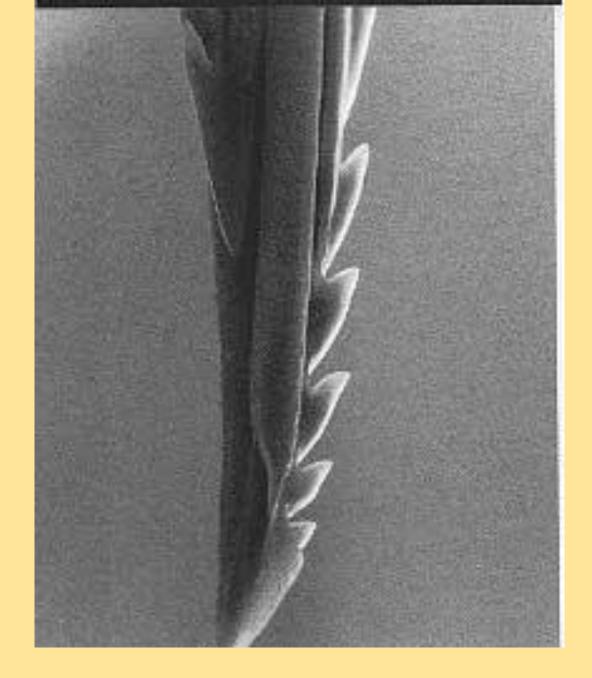
L'apiculture vue au microscope AAVO











Au moment de la ponte, la reine fixe l'œuf par une extrémité au fond de la cellule Puis pendant 3 jours, l'œuf se développe et s'incline pour finir par se coucher au fond de l'alvéole.

Au bout de 3 jours, l'œuf éclot par dissolution de sa membrane. Il devient alors une larve.

1,3 à 1,8mm X 0,5 mm Ø

0,12 et 0,22 mg.





1,3 à 1,8 mm X 0,5

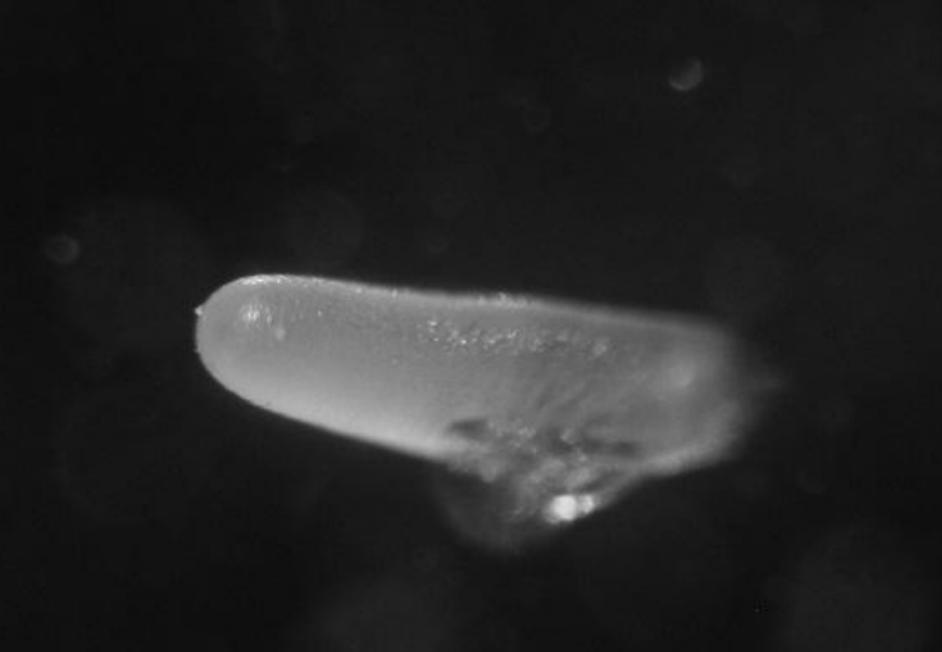
mm 0,12 à 0,22 g





Ici, l'œuf placé au bord de l'alvéole et non au fond indique la ponte d'une ouvrière ruche dite bourdonneuse car dépourvue de reine.





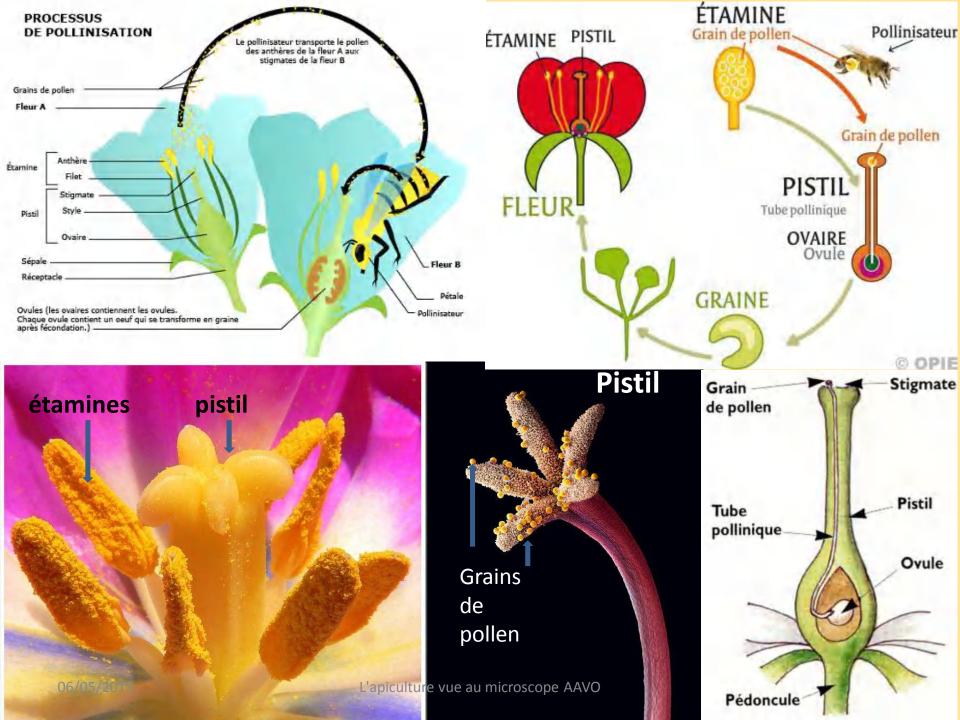


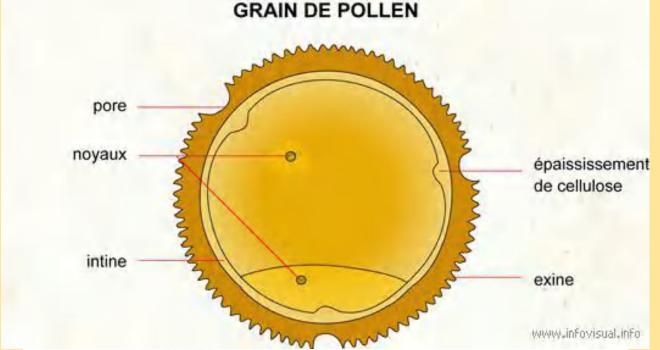


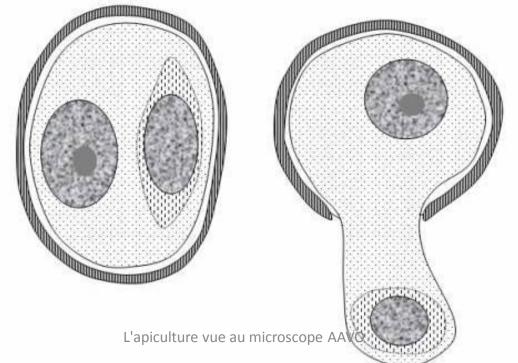




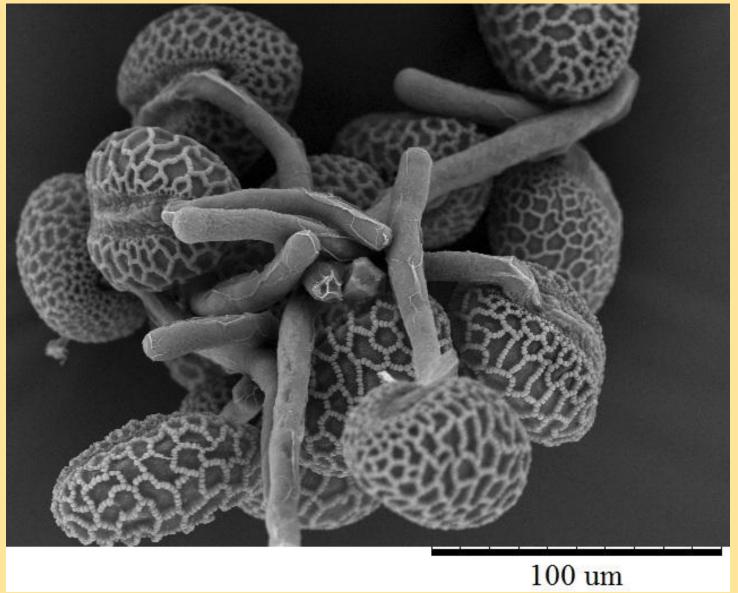


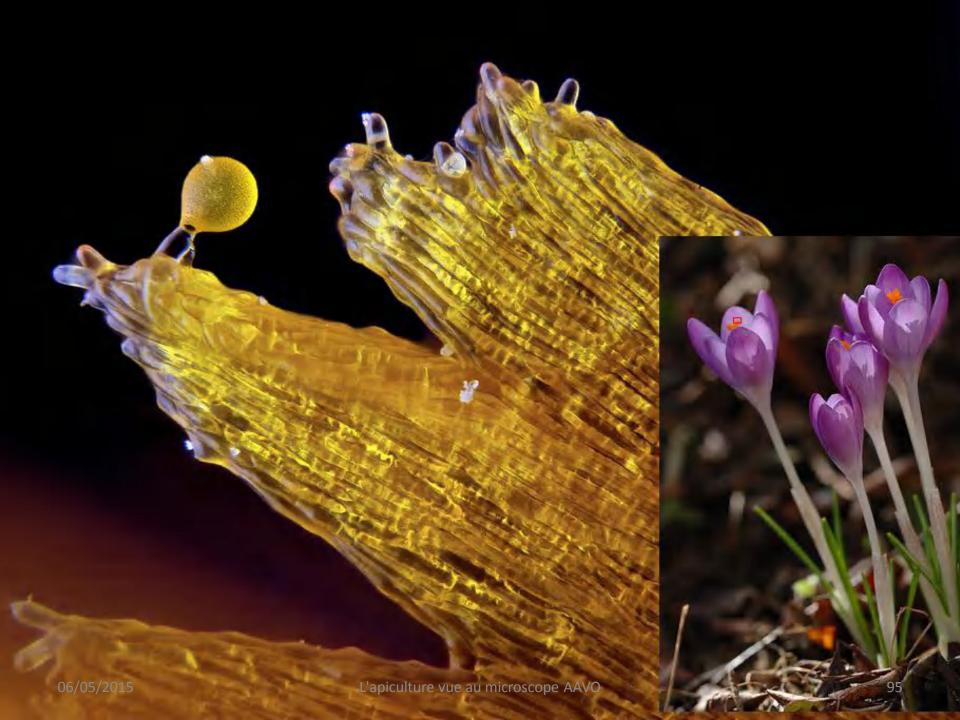






TUBES POLLINIQUES CONTENANT LES GAMETES MALES ET LES NOYAUX VEGETATIFS

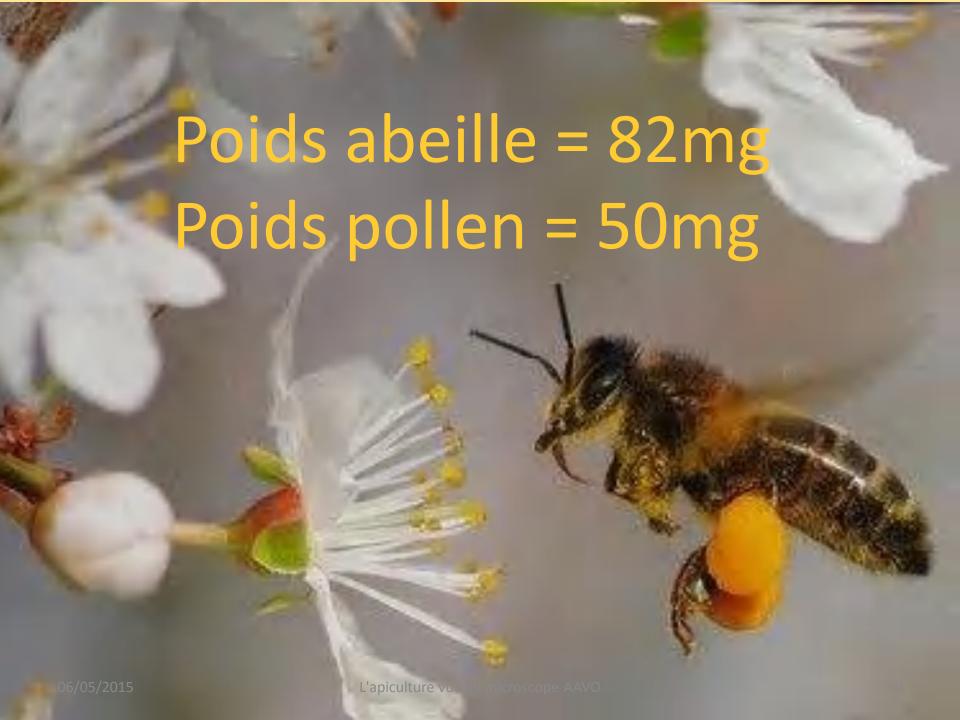


















Crucifère Choux, cresson



Malya Mauve



Géranium



Drosera Insectivore





Armeria 06/0**Œille**t



Sarrasin

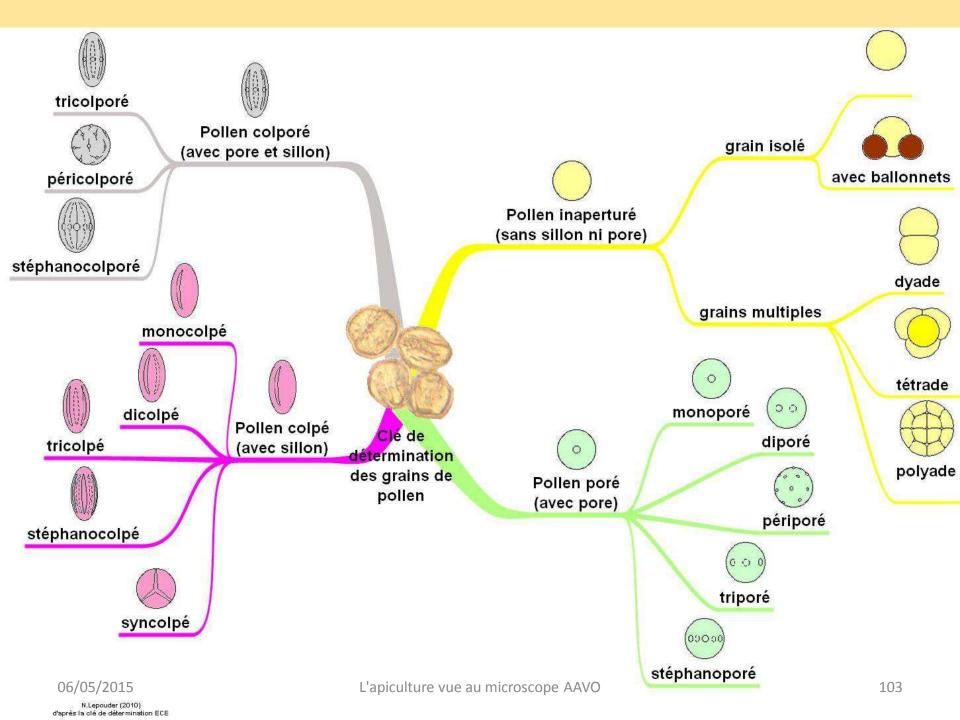


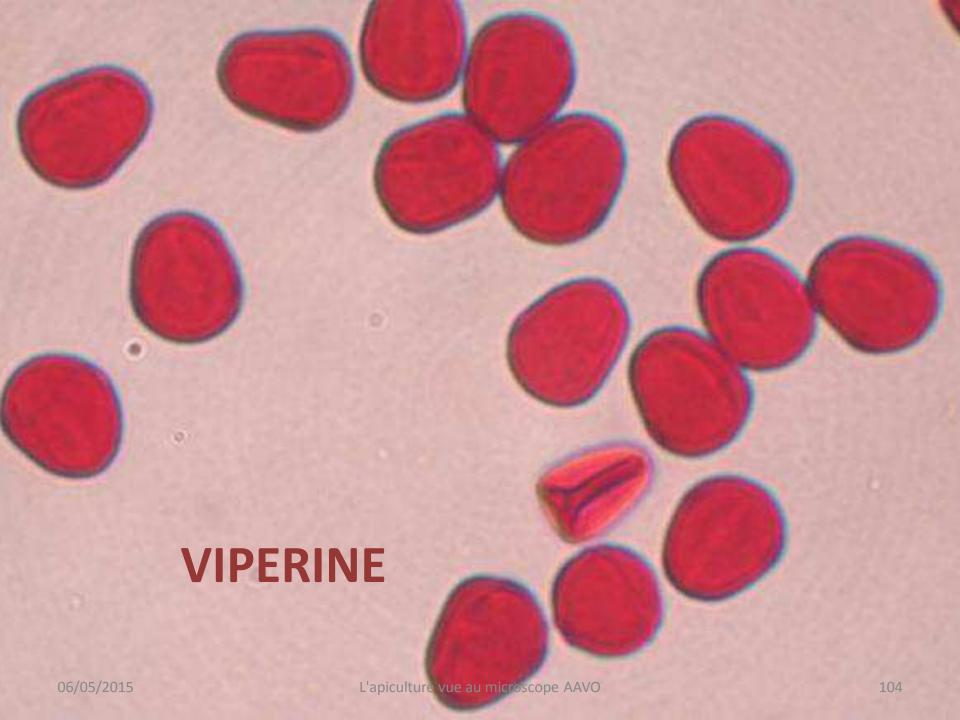
Corylus

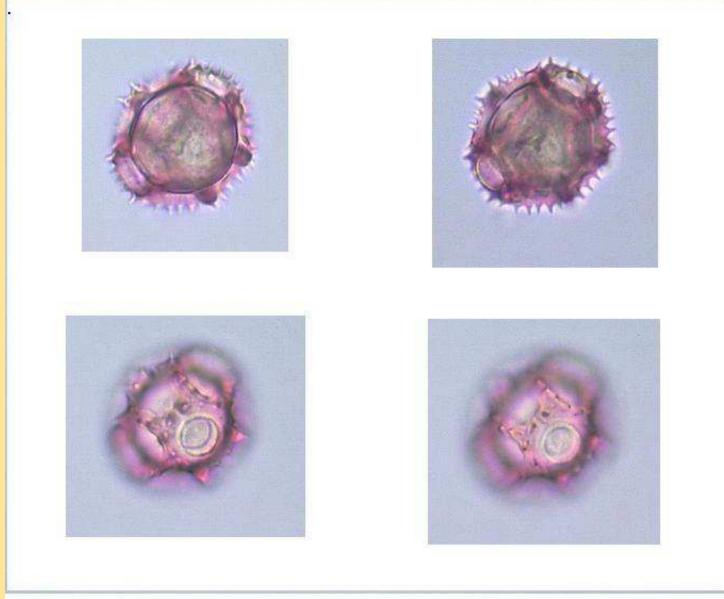


Houx

L'apiculture vue au microscope**Noisetier**



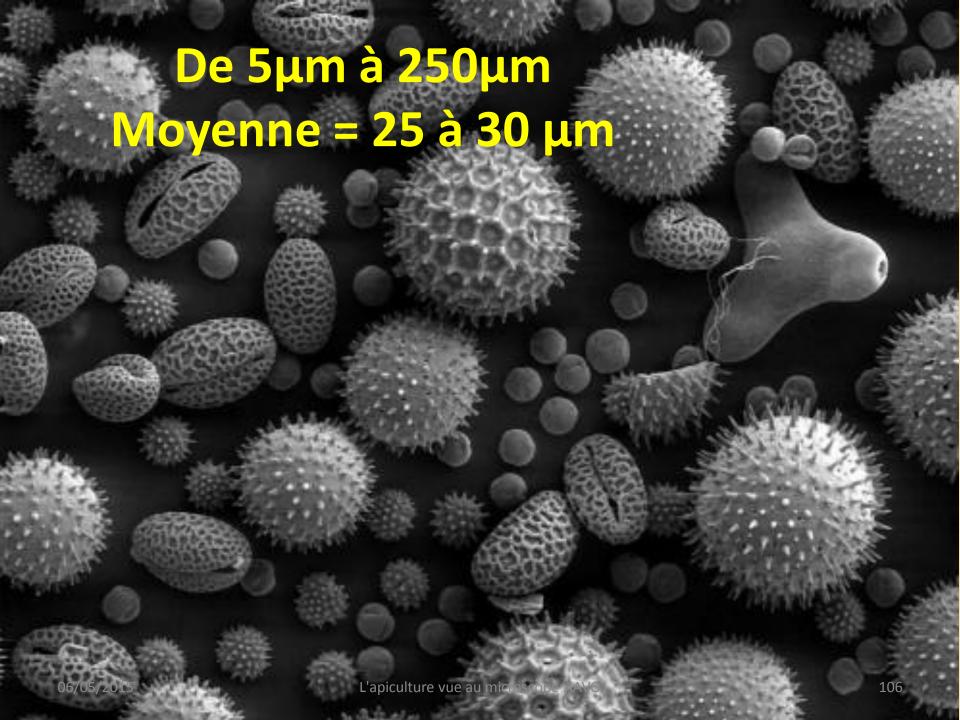




20 µm obj. x40 R = 1:1,7

Micro: paralux L3000 - Photo: microcular 3MP

pollen de pissenlit
Fond Clair - Prép: glycérine - Col: fuchsine
BARTH olivier - 28/06/2008





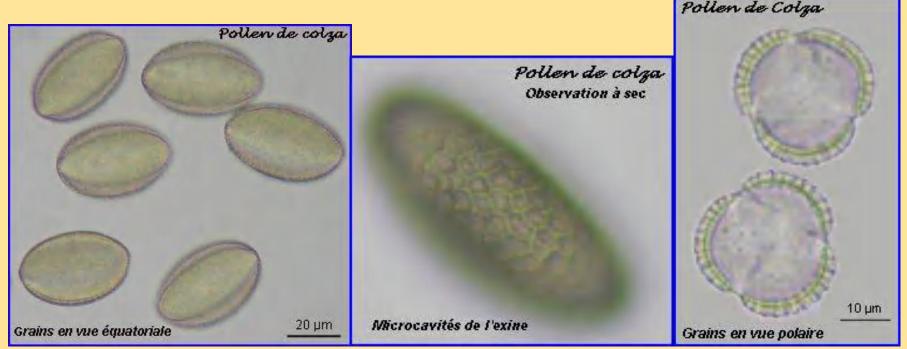


POLLEN: du grec « palunein » = poudre

- ❖ la paléo palynologie est l'étude des pollens fossiles : elle permet de donner des informations sur le climat, la végétation et le paysage au cours de l'ère quaternaire
- ❖ l'aéropalynologie, qui consiste à analyser la présence dans l'air de différents types de pollens, a des applications en médecine (pathologies allergiques) et en agronomie (pollinisation)
- la mélissopalynologie est l'étude des pollens présents dans le miel, ce qui permet de détecter les mélanges et les fraudes.

Les grains de pollen du colza (Brassicaceae) sont tricolpés (3 sillons germinatifs) avec une exine à ornementation réticulée et imprégnée d'une substance collante responsable de la formation d'amas.

Ce fluide contient des lipides (et des protéines), il occupe les microcavités de l'exine et constitue le manteau du grain . Il a de multiples fonctions et apparaît indispensable pour que le pollen soit fertile. Il colle également aux poils des insectes.







COLZA





AMBROISIE



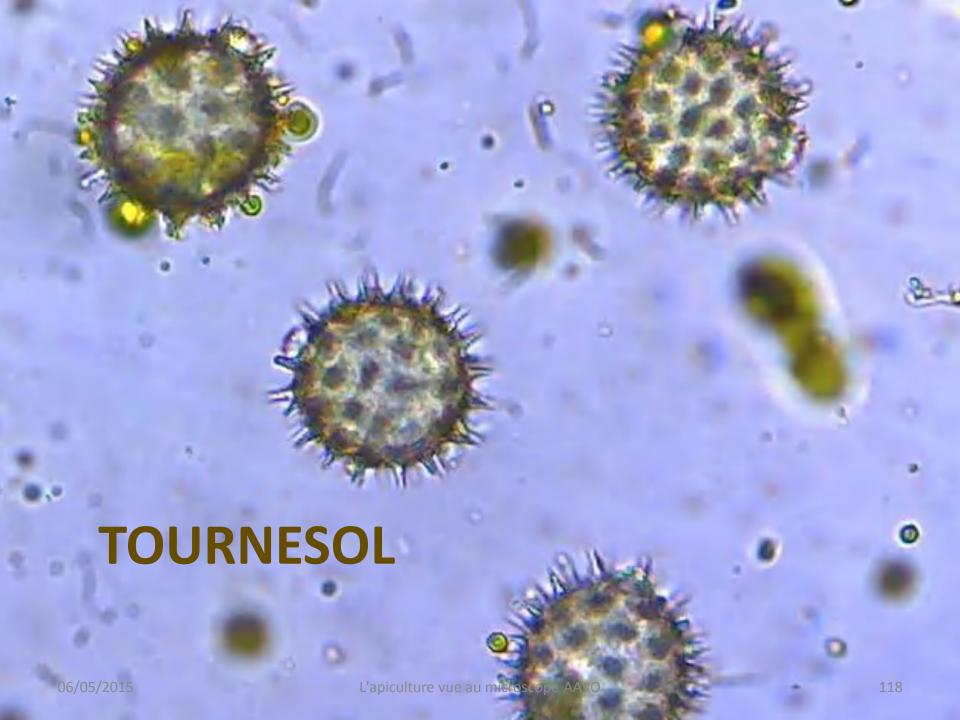




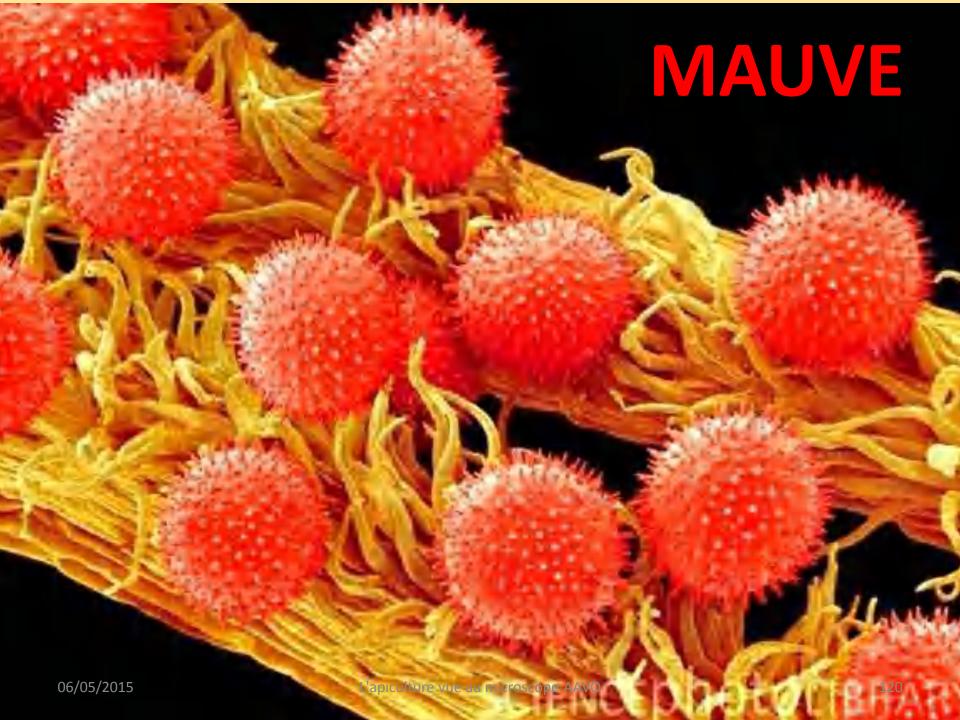


06/05/2015 116

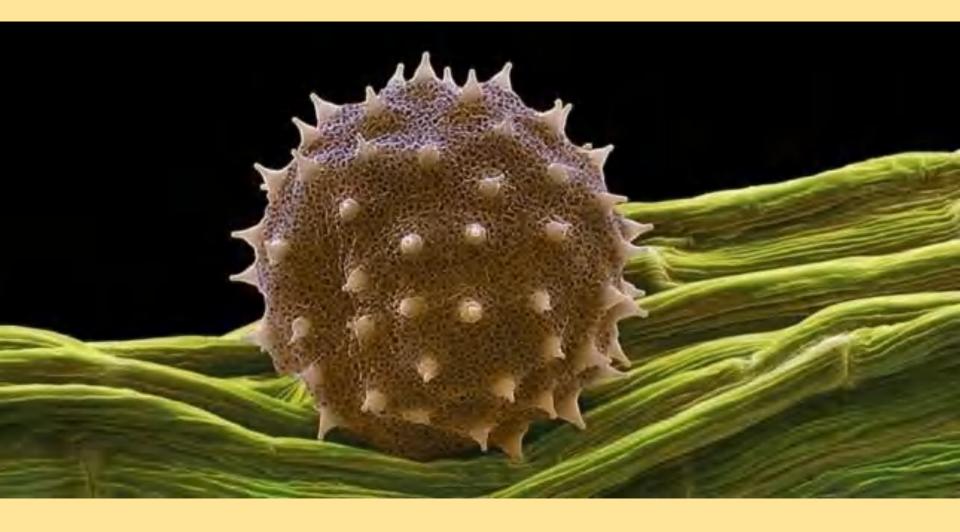


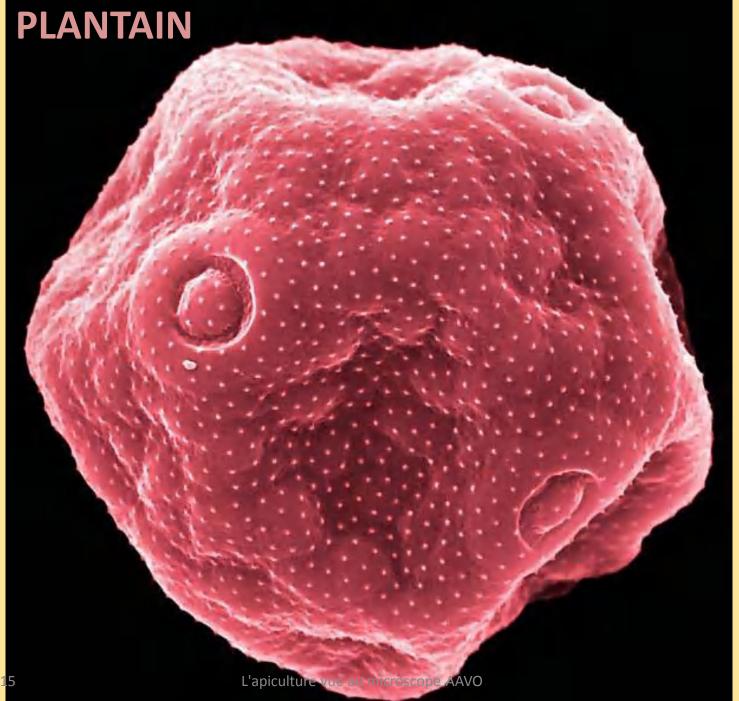






GRANDE MAUVE

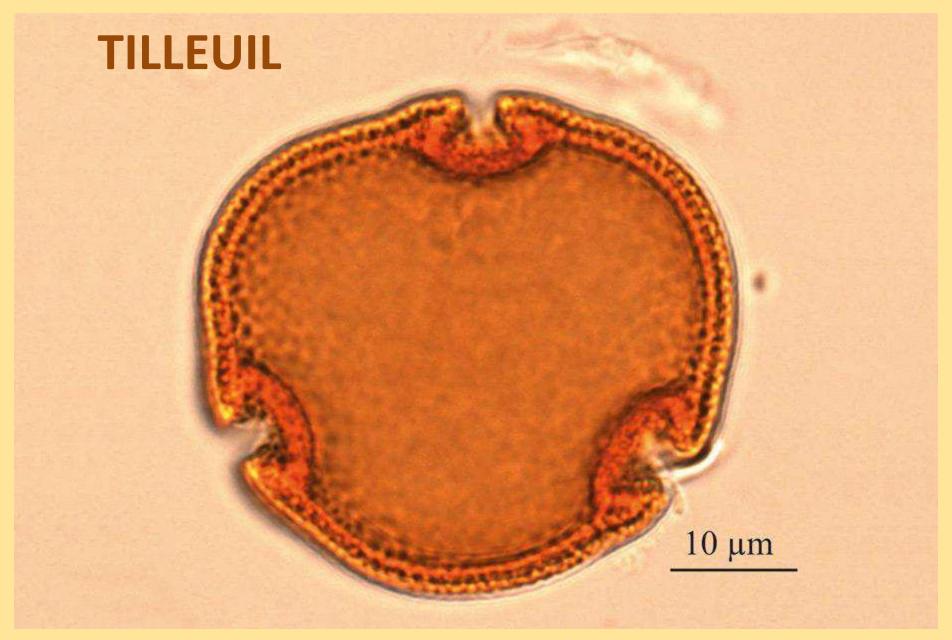


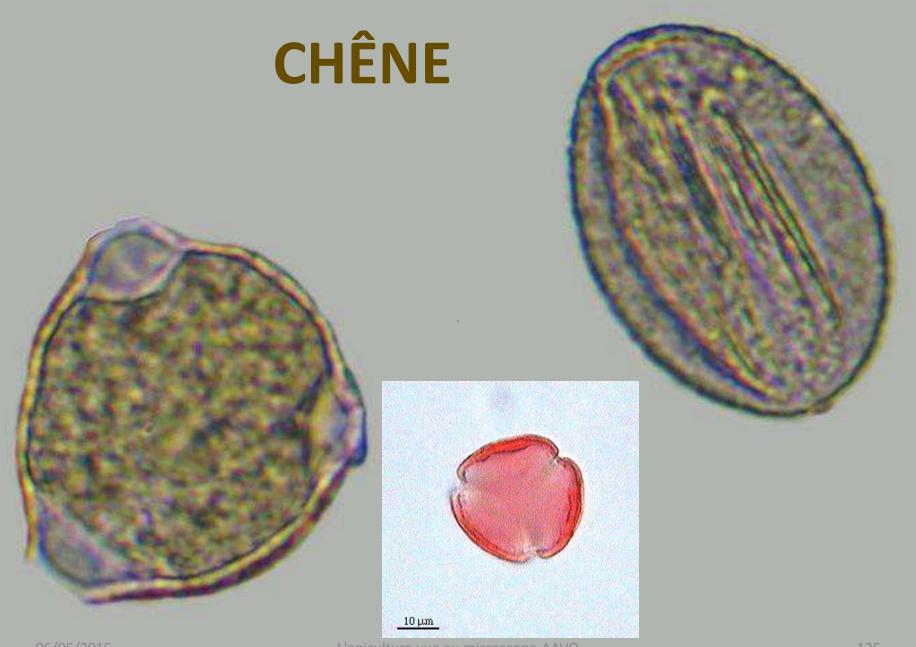


06/05/2015

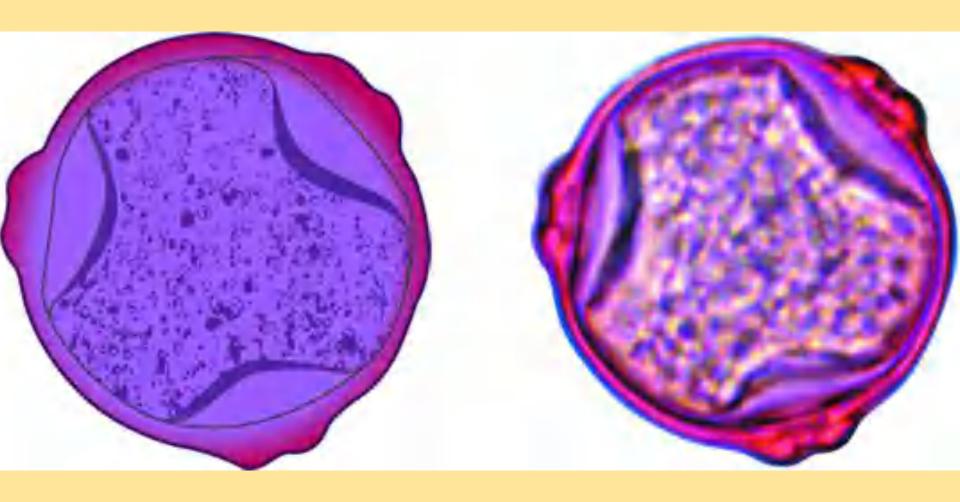
Myosotis le + petit de tous = $5\mu m$

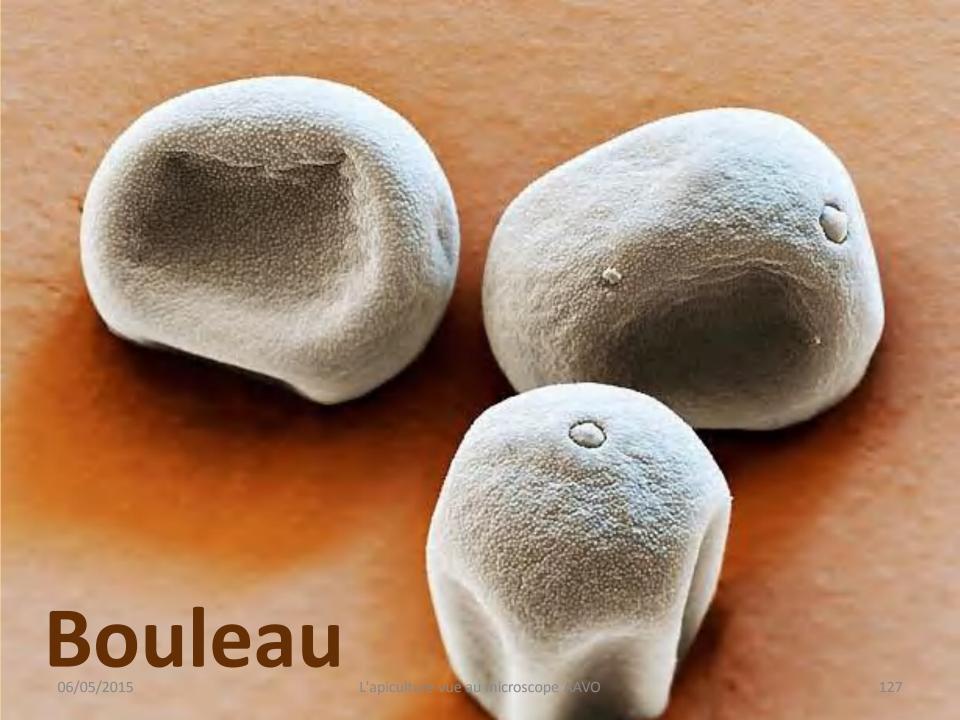


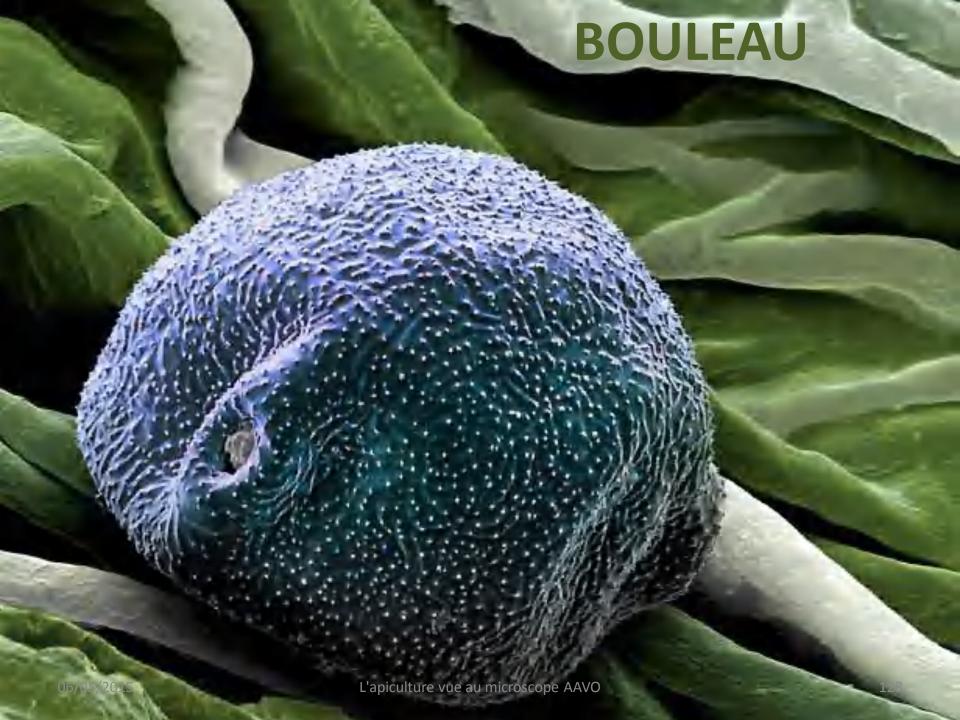




BOULEAU





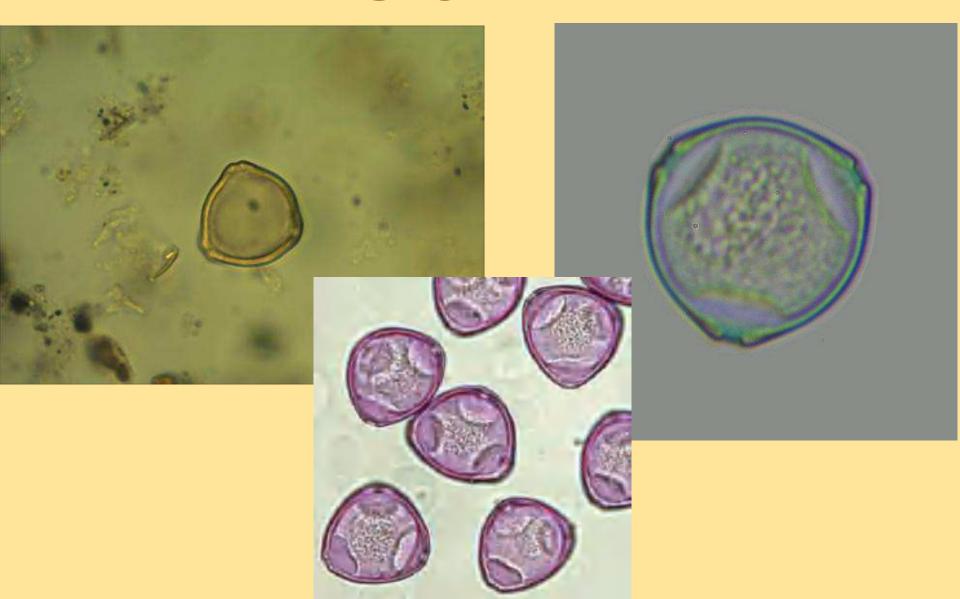


SAULE





NOISETIER



06/05/2015

L'apiculture vue au microscope AAVO





CHATAIGNIER

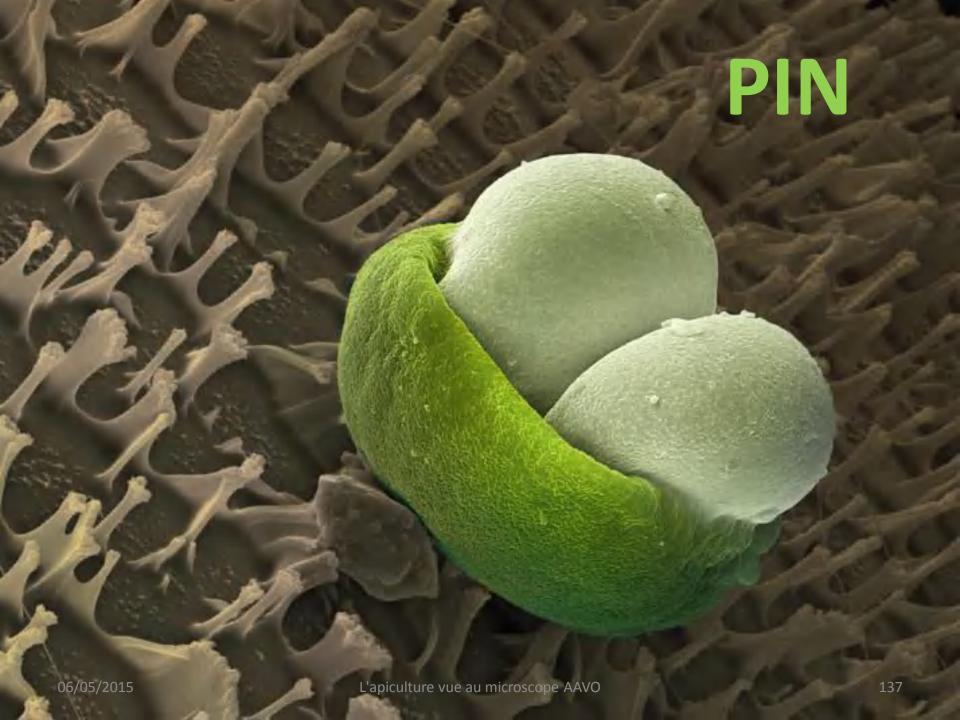


MARRONIER



PIN







CONCOMBRE











CHATAIGNIER?



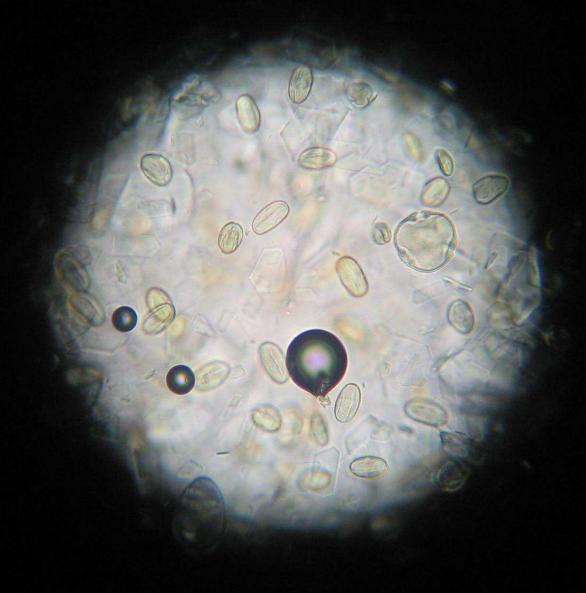


CHATAIGNIER 142





CHATAIGNIER





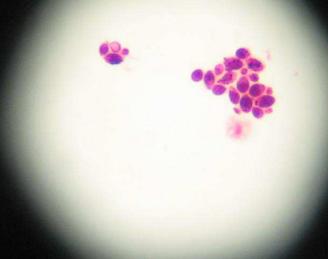
CHATAIGNIER



LEVURES

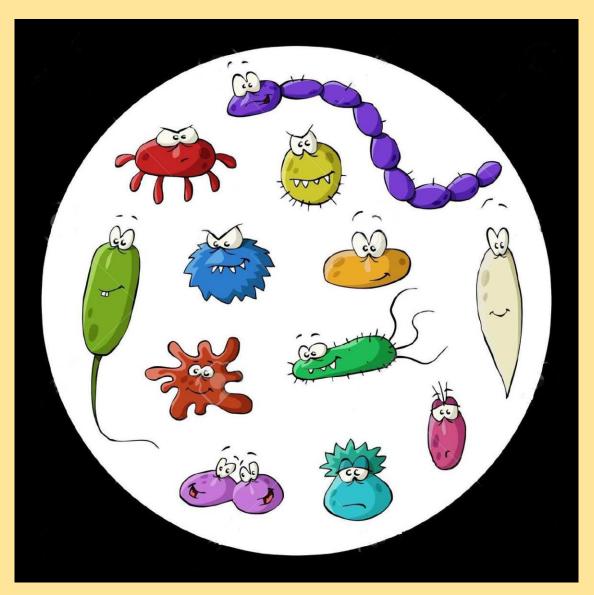


LEVURES



LES MICROORGANISMES

- > Agents fongiques
 - Levures
 - Champignons
- **Bactéries**
- **≻Virus**



Notre corps abrite plus de 500 espèces de bactéries différentes aux formes et aux tailles variées → 100.000 milliards de cellules, soit 10 X plus que de cellules humaines, Ces bactéries s'attachent entre elles et forment des populations complexes appelées biofilms.

Grossissement: X 7500



LEVURES (non pathogènes pour l'abeille)

Taille: 4 à 10μm

Champignons ascomycètes unicellulaires; ce sont des eucaryotes (la cellule présente des compartiments comme le noyau avec l'ADN ou les mitochondries). Chaque individu est constitué par une unique cellule.

Généralité sur les levures :

Cause maladies chez l'homme, mycoses dont les agents pathogènes sont essentiellement des candida.

La flore présente sur la peau, ongles et les muqueuses est supplantée par cette levure normalement présente dans la flore commensale en faible quantité

Chez immunodéprimés ou pour d'autres raisons (macération)(irritations), (traitement antibiotique ayant décimé la flore)...il se crée un déséquilibre et elle peut devenir pathogène en prenant seule la place de la flore commensale.

LEVURES

- ▶ absence de pathogénicité chez l'abeille
- rôle dans l'apiculture : hydromel
- ► industrie agro-alimentaire <u>Saccharomyces cerevisiae</u> (étymologie : champignon à sucre de cervoise, la bière des Gaulois).
- ► lieu de vie : les levures contaminent naturellement fruits, grains et grains de pollen.
- ► 1680 : à l'aide d'un microscope, Leeuwenhoeck observe pour la première fois les globules de levure de bière.
- ► 1857: pour Louis Pasteur les agents responsables de la fermentation sont les levures.
- En perçant ainsi ces mystères, il démontre que la cellule de levure peut vivre avec ou sans O2.

La levure est le meilleur microorganisme pour effectuer la fermentation alcoolique à partir de sucres simples, glucose, fructose

Hydromel = eau + miel + levures (pollen)

En présence O2 dégradation des sucres simples (en C6) présents dans son milieu de vie, par un métabolisme oxydatif ⇒ vie, croissance et multiplication.

Respiration aérobie : $C6H12O6 + 6O2 \rightarrow 6H2O + 6C02 + 686kcal$

Glucose + Oxygène → Eau + Gaz carbonique + Energie

En l'absence O2 levure + sucre = production d'alcool (fermentation) grâce à ses enzymes (les zymases), elle dégrade les sucres simples (en C6) présents dans son milieu de vie, par un métabolisme fermentatif qui conduit à la formation de gaz carbonique, d'alcool et un peu moins d'énergie.

Ce métabolisme fermentatif moins énergétique que le métabolisme oxydatif, affecte la multiplication cellulaire mais a l'avantage de permettre à la levure de survivre même en anaérobiose, vin, cidre, hydromel(titre entre 10° et 16°<18°), pain (lors de la cuisson, alcool et gaz carbonique produits lors de cette fermentation s'évaporent).

en anaérobiose C6H12O6 → 2 C02 + 2 C2H5OH + 27 kcal Glucose → Gaz carbonique + Ethanol + Energie

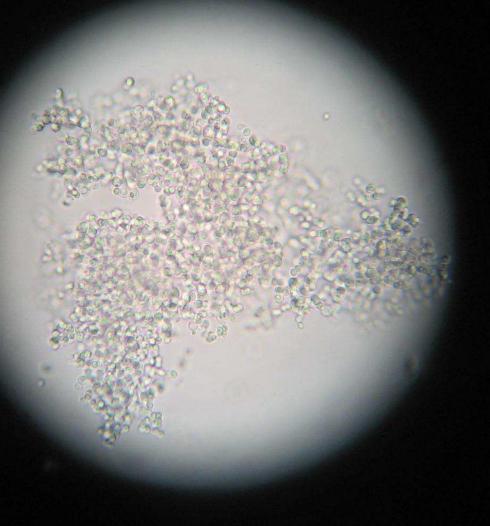
Fermentation acétique par la levure Mycoderma acetii

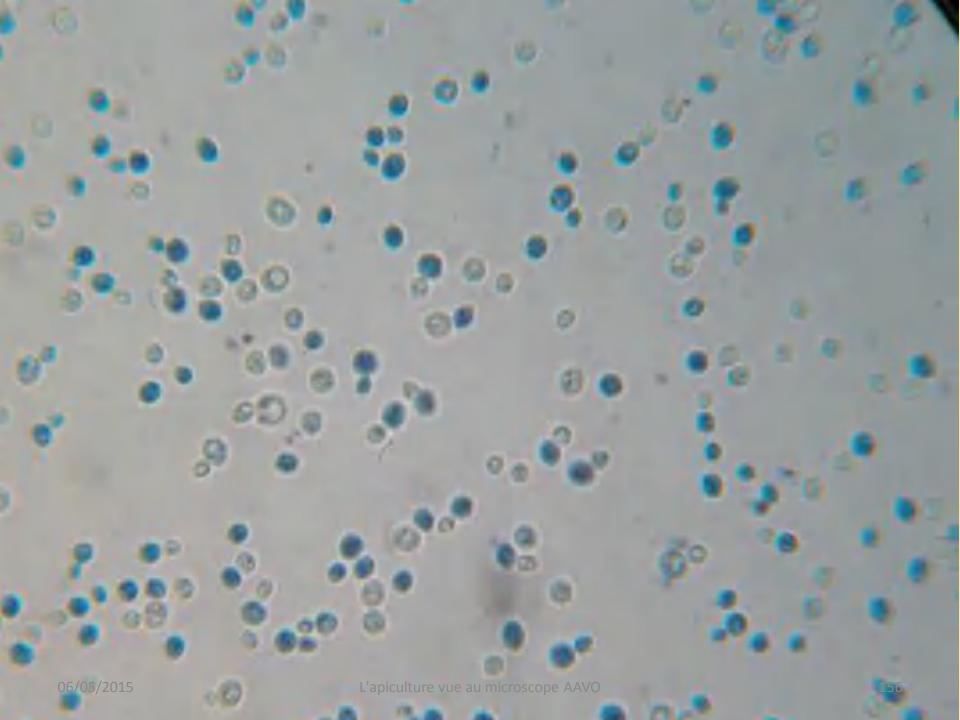
C'est Antoine de Lavoisier (1743-1794) qui a découvert que la formation du vinaigre (acide acétique ou éthanoïque) correspondait à l'oxydation de l'alcool → Fermentation aérobie

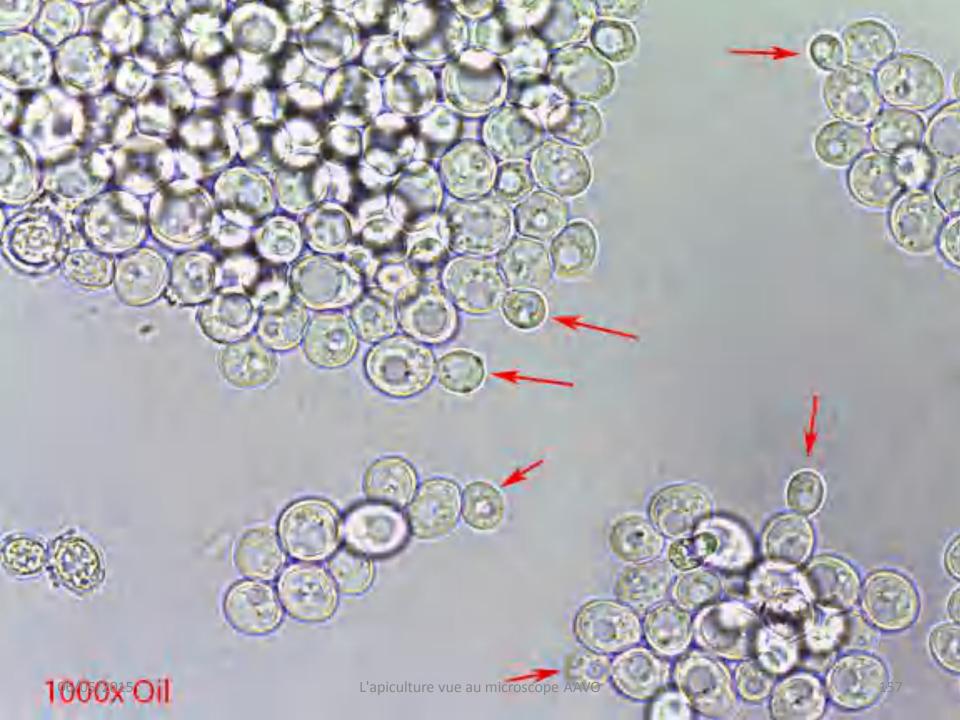
$$C_2H_5OH + O_2$$
 ---------- $CH_3COOH + H_2O + Energie$
Ethanol Dioxygène Acide éthanoïque soit 348KJ

LEVURE: saccharomyces cerevisiae, levure de bière ou de boulanger







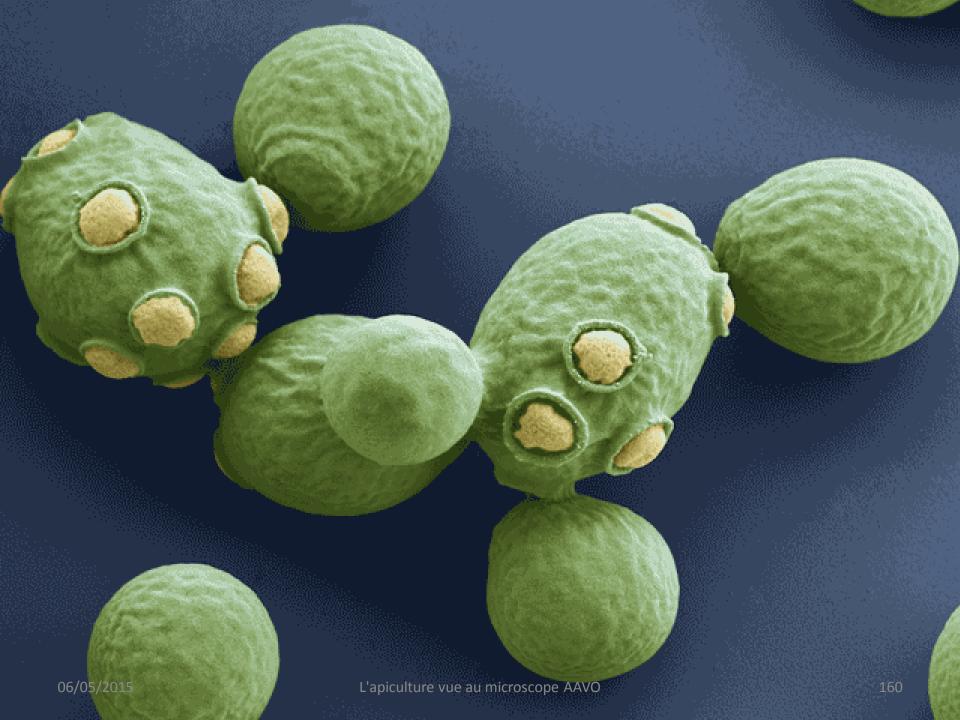




LEVURE

Division après bourgeonnement

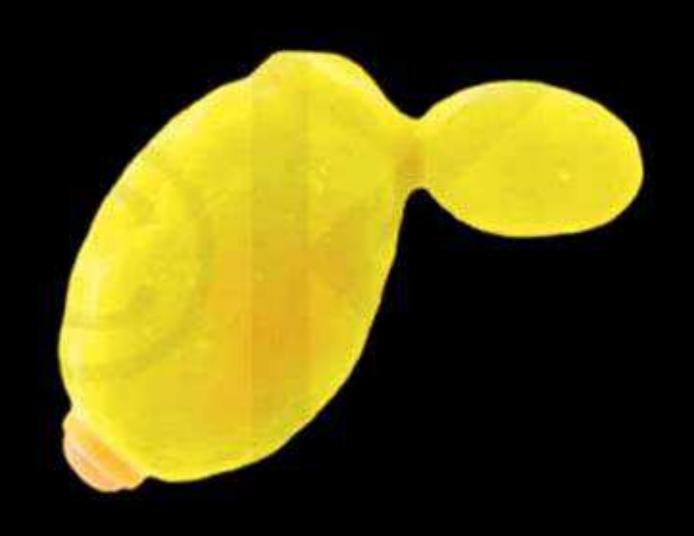


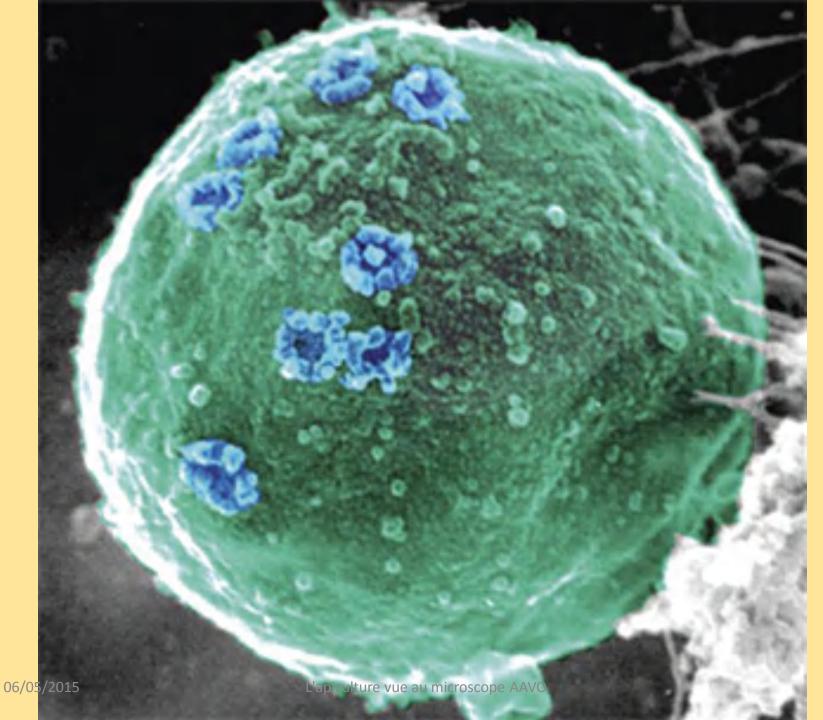




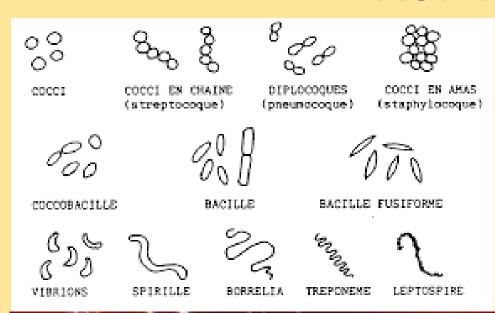


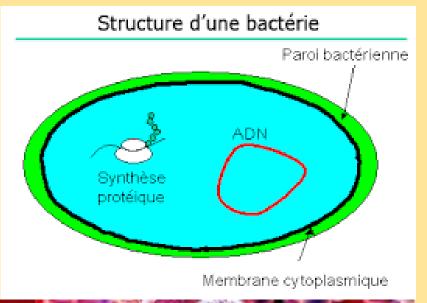


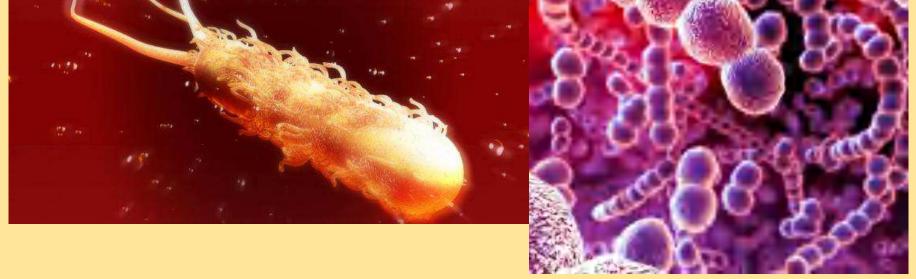




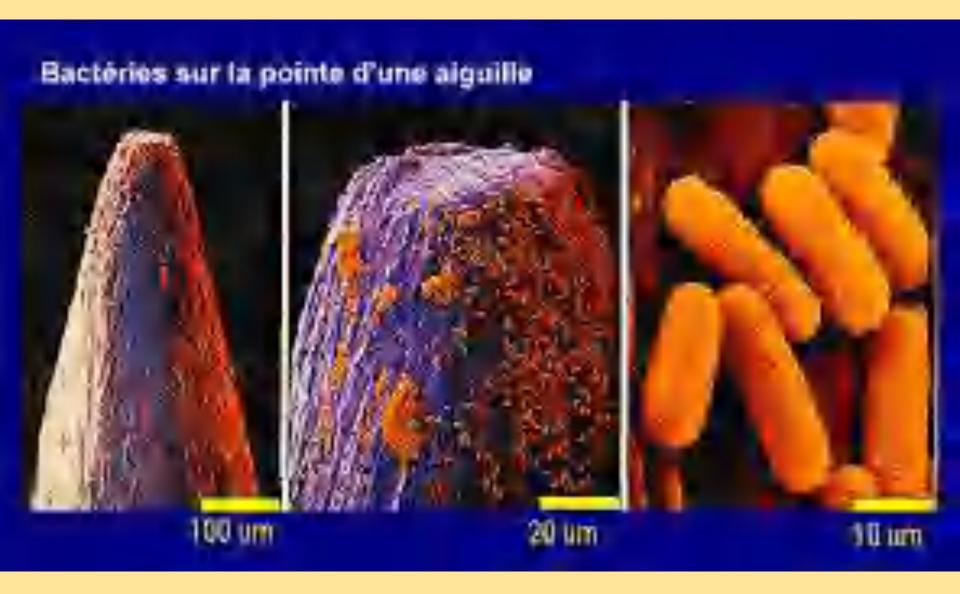
BACTERIES







Echelle comparative d'une bactérie



BACTERIES NON PATHOGENES Flore du jabot de l'abeille

Nombreuses espèces différentes de bactéries dont Lactobacillus et Bifidobacterium.

- → Production de nombreuses substances antimicrobiennes et des métabolites tels que l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide formique, le peroxyde d'hydrogène et des substances équivalentes aux antibiotiques.
- → Sert à protéger le nectar de la dégradation par d'autres organismes, jusqu'à ce qu'il devienne du miel.
- → La flore des bactéries de l'acide lactique a un impact sur les bactéries Paenibacillus larvae provoquant la maladie de la loque américaine.

Le système immunitaire des abeilles est très peu développé et les bactéries de l'acide lactique sont reconnues pour être un important complément du système immunitaire

Calendrier de l'évolution des populations microbiennes

Mars-avril-mai	Début d'activité de la ruche. Période de popula- tions diverses non significative
Juillet-août	Apparition de la flore significative Période de population microbienne équilibrée Population microbienne équilibrée Diminution de la flore lactique Fin d'activité de la ruche

- Pseudomonas
- *****Levures
- Lactobacillus

Pain d'abeille

Le pain d'abeille contient en outre des aminoacides, vitamines et ferments. Il comporte moins de protéines que le pollen, mais celles-ci sont plus facilement assimilables

Tassement des pelotes de pollen + voile de miel ou de nectar



Le pollen contient 30 à 40 % de sucres totaux

sucres + enzymes produites par les microorganismes

acide lactique

Fermentation lactique

- → développement des bactéries aérobies du premier groupe / 2 à 3 jours.
- → nombre → pour finir par disparaître presque totalement lorsque la fermentation lactique se produit.
- Cette fermentation \rightarrow nécessaire pour la conservation du pollen ; production d'acidité, baisse du pH \rightarrow stabilité vis-à-vis des microorganismes.
- Lactobacillus présents dans le thorax et l'abdomen et en quantité plus importante dans la tête, surtout chez les jeunes abeilles qui ne sont pas encore sorties de la ruche. L'organe le plus peuplé en Lactobacillus est le jabot, mais on en trouve aussi dans les glandes hypopharyngiennes et labiales dont les conduits sont contaminés à partir de la réserve active du jabot.

Absence de Lactobacillus sur les étamines, le contenu du jabot sert à la confection de la pelote au cours du butinage et qu'il constitue la principale source d'ensemencement pour les pelotes.

LES ENNEMIS MENACENT D'AUTANT PLUS QUAND L'EQUILIBRE EST FRAGILISE



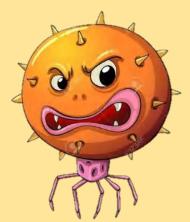
ACARIENS

CHAMPIGNONS FILAMENTEUX



BACTERIES

VIRUS





MALADIES INFECTIEUSES DE L'ABEILLE



Agents viraux (virus à ARN)	Agents bactériens	Agents fongiques
Virus de la paralysie aiguë (ABPV, Acute bee paralysis virus)	Paenibacillus larvae (agent responsable de la loque américaine)	Ascosphaera apis (agent responsable du couvain plâtré)
Virus de la cellule royale noire (BQCV, Black queen cell virus)	Melissococcus plutonius (agent principal de la loque européenne)	Nosema apis (agent responsable de la Nosémose)
Virus de la paralysie chronique (CBPV, Chronic bee paralysis virus)	Paenibacillus alvei* (agent associé ou secondaire de la loque européenne)	Nosema ceranae
Virus des ailes déformées (DWV, Deformed wing virus)	Enterrococcus faecalis* (agent associé ou secondaire de la loque européenne)	
Virus israélien de la paralysie aiguë (IAPV, Israeli acute paralysis virus)		
Virus du Cachemire (KBV, Kashmir bee virus)		
Virus du couvain sacciforme (SBV, Sacbrood virus)		

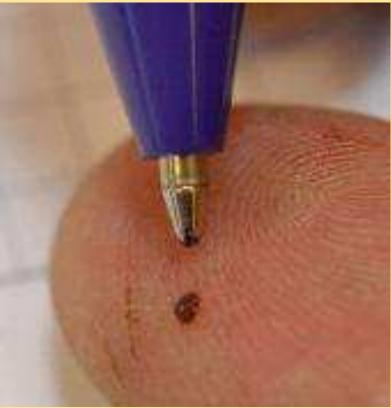
VARROA

Acarien ectoparasite originaire de l'île de Java où il vit en équilibre avec l'abeille asiatique, l'Apis cerana, présent en France depuis 1982 \$\times\$ 1.0 \(\frac{a}{1.2}\) x 1.5 \(\frac{a}{1.8}\) mm forme ovale pattes en avant brun foncé \$\times\$+ petit 0.75 \(\frac{a}{0.93}\) 0.90 mm forme arrondie pattes sur le côté, jaunâtre

- Se nourrit en s'accrochant aux abeilles pour les piquer et leur sucer l'hémolymphe (sang chez les insectes)
- Reproduction dans les alvéoles du couvain operculé, il se glisse sous la larve avant l'operculation.
- Chaque varroa \bigcirc ponds 5-6 œufs dont le 1^{ier} de développe en \bigcirc dès le développement terminé \rightarrow accouplement,
- A l'émergence de l'abeille les \mathcal{L} adultes survivront dans la colonie, les \mathcal{L} mourront.
- En plus de les affaiblir, à l'occasion de ces piqûres, le varroa leur transmet des virus.

VARROA: ECHELLE COMPARATIVE









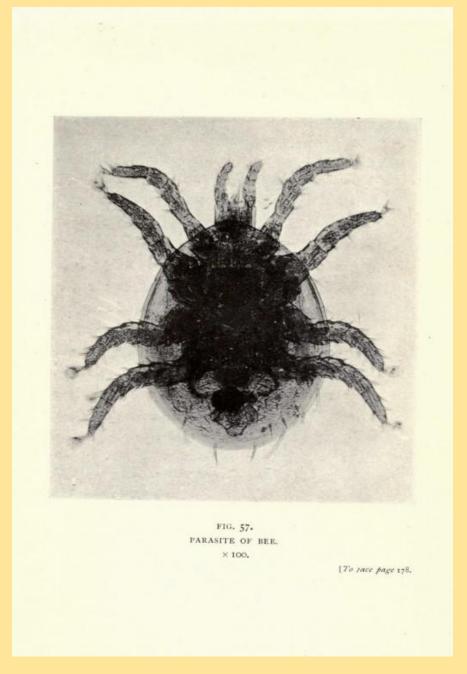


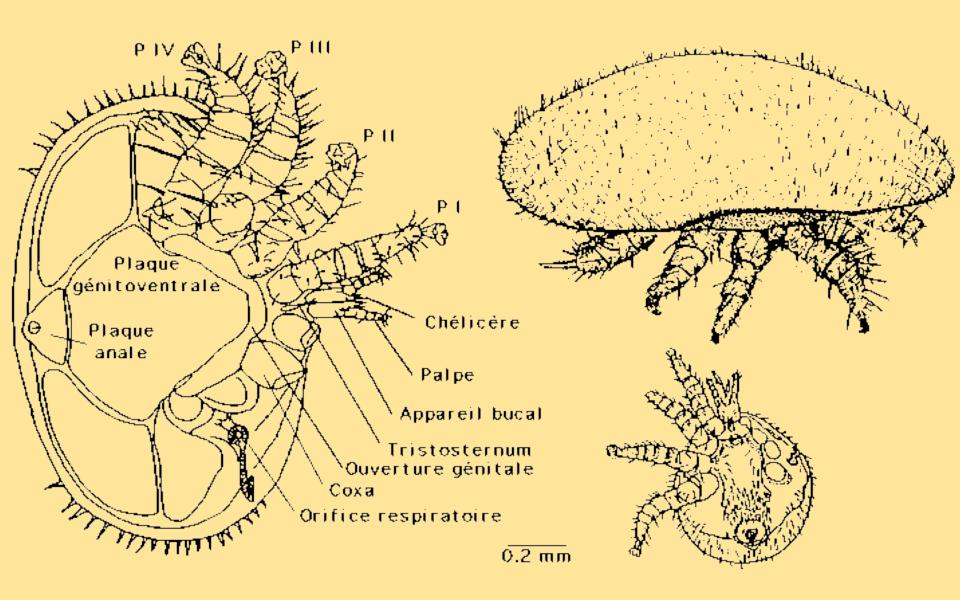




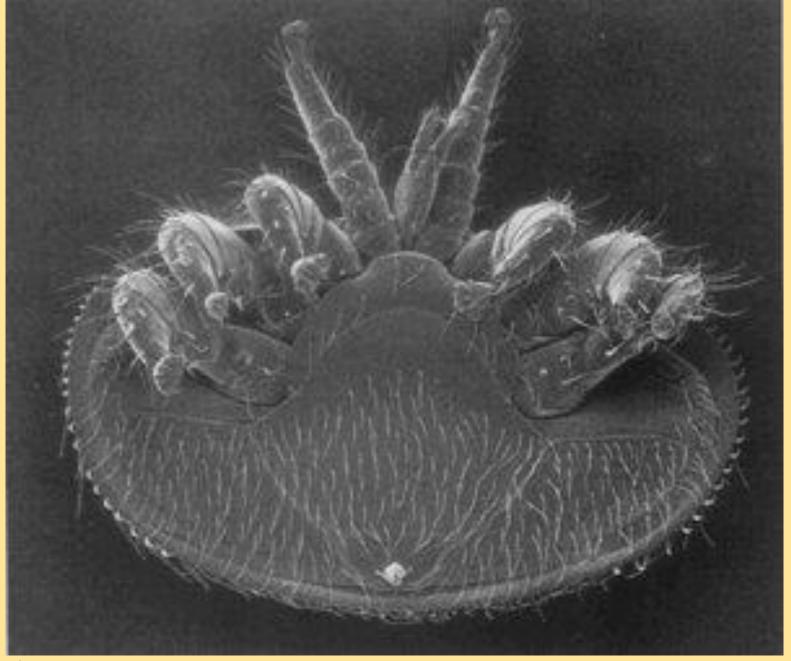












06/05/2015

L'apiculture vue au microscope AAVO



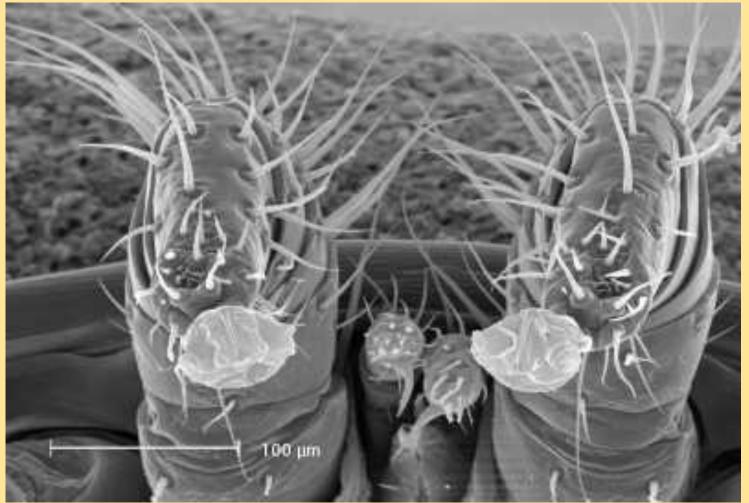


Bouche = rostre(museau) entouré de palpes

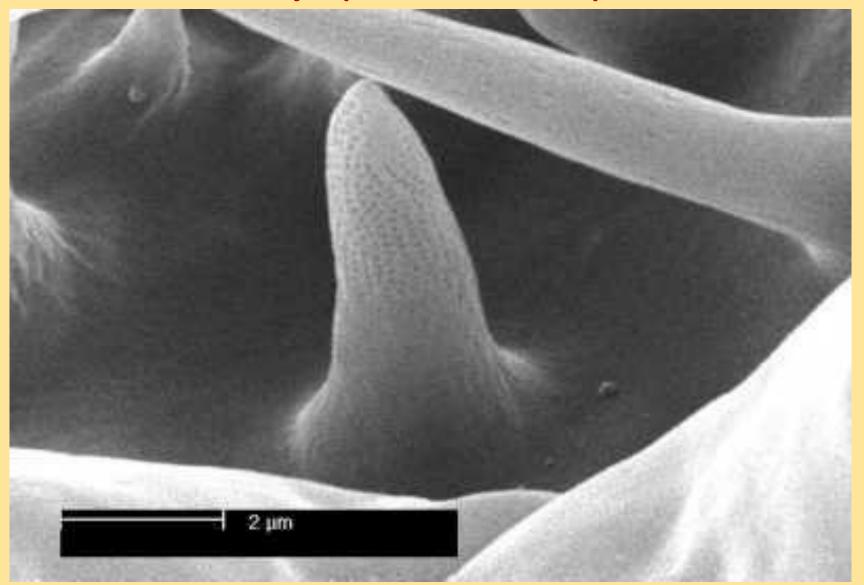
AU CENTRE pièces buccales (pédipalpes) et poils sensoriels gustatifs

DE CHAQUE COTE pattes antérieures avec cavités sensorielles → odorat

+ longs poils tactiles et à l'extrémité des ventouses mobiles



Sensilles olfactives avec pores pariétaux pénétration des molécules olfactives jusqu'aux cellules réceptrices à l'intérieur



Les champignons microscopiques ou agents fongiques pathogènes chez apis mellifera

Aspergillus flavus pathogène que AA)



couvain pétrifié (+ rare et -

Ascosphaera apis



couvain plâtré

❖ Nosema cerana et apis



dysenterie

Aspergillus flavus et ascosphaera apis = champignons μ
Nosema = microsporidie, champignon unicellulaire (protozoaire)

Production de spores résistantes à des conditions de vie difficiles propagation et risque de contamination +++

ASPERGILLUS FLAVUS

- Croissance 27 à 40 °C pH entre 2,8 et 7,4 O2 ++++ peu de lumière
- Le champignon ne résiste pas à 30 minutes à 60 °C.
- Pour détruire les spores, il faut du formol à 5%, javel au 1/5^{ième}.
- Ingestion de spores qui se développent dans l'intestin et envahissent tout l'organisme.

Traitement

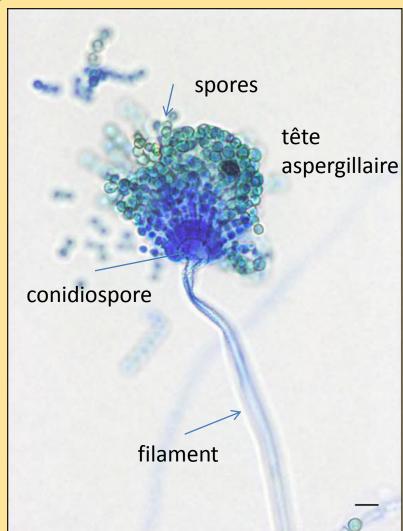
La maladie peut disparaître spontanément.

En cas d'atteinte grave, il est conseillé de détruire les ruches atteintes / feu.

- ✓ Larve ratatinée et de couleur crème, le corps de la larve devient très dur et cassant; il est difficile à extraire car le mycélium adhère aux parois.
- ✓ Couvain pétrifié blanc jaunâtre (s'il n'y a pas de spores) ou jaune verdâtre (s'il y a formation de spores)
- ✓ La cellule peut être entièrement remplie de mycélium le couvain pétrifié est souvent regroupé en petites plages sur les cadres
- ✓ Les opercules sont parfois affaissés
- ✓ Les abeilles adultes sont excitées, agitées puis paralysées et meurent

Aspergillus flavus :aspergillose ou aspergillomycome











Aspergillus flavus







ASCOSPHAERA APIS

Le filament polaire de la spore est extrudé et pénètre l'épithélium de l'intestin, en particulier dans la région postérieure du ventricule. Le contenu de la spore passe par le filament et entre dans le cytoplasme des cellules épithéliales où il se reproduit.

Destruction par Javel au 1/5^{ième}

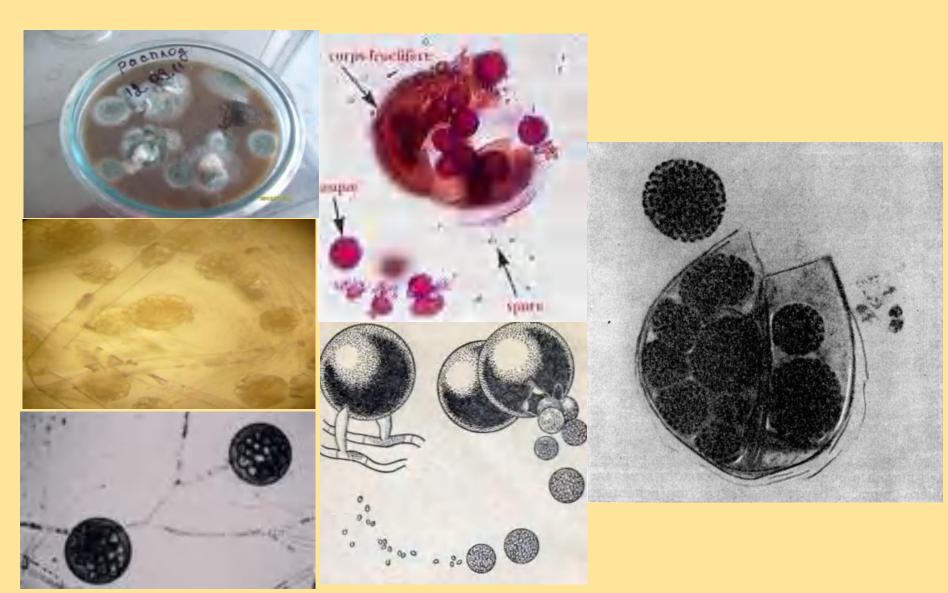


Les spores de ce champignon germent dans le tractus digestif d'abeilles, puis commencer la croissance mycélienne pendant le dernier stade de développement larvaire. Abeilles larves et des pupes mortes apparaissent calcaires grâce à la croissance tout au long de l'abeille de mycélium. Ces «momies» calcaires sont très contagieuses, et les spores de ce champignon réinfectent souvent des colonies via fournitures alimentaires stockés ou le transport direct pour les larves plus jeunes par les abeilles adultes travaillant dans le nid. Les abeilles adultes réduisent les effets de ce champignon sur la colonie fréquemment en identifiant et en éliminant les individus malades. La maladie est associée à une forte densité de couvain (productivité) et des températures extérieures

plus froides.

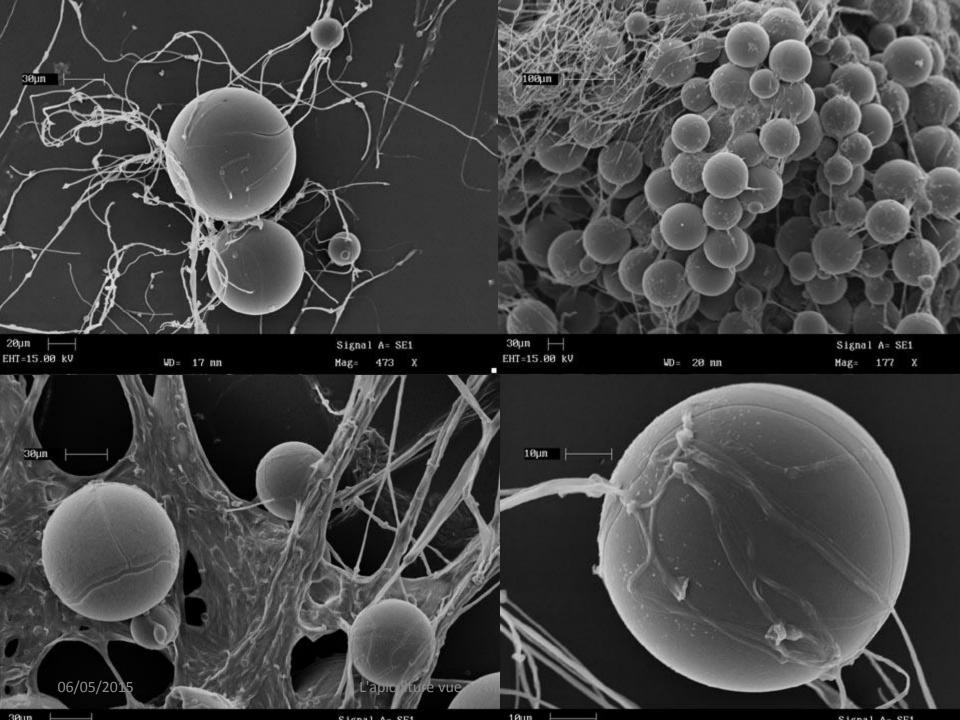


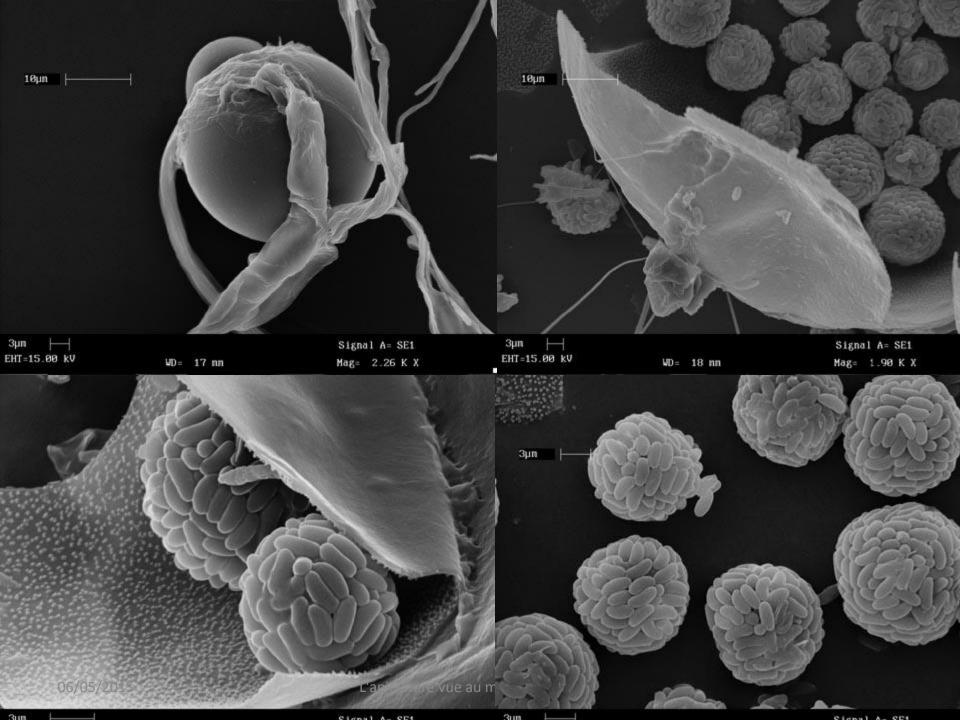
ASCOSPHAERA APIS

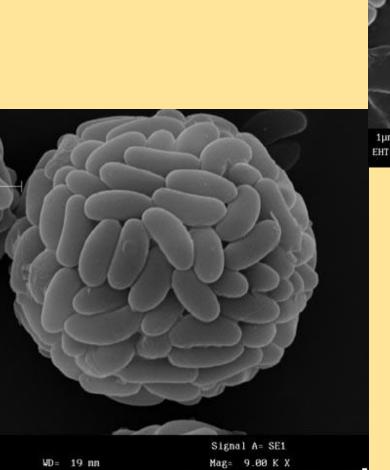


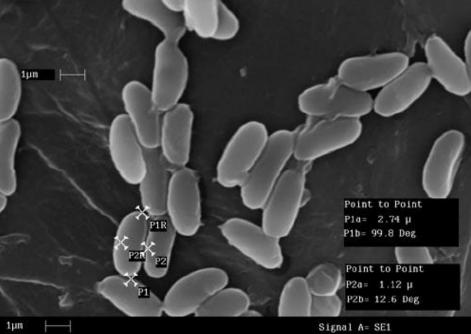
06/05/2015

L'apiculture vue au microscope AAVO









1µm EHT=20.00 kV

WD= 34 nn

Mag= 9.03 K X

Зип

1µm

EHT=15.00 kV

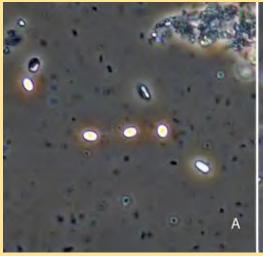
Nosema

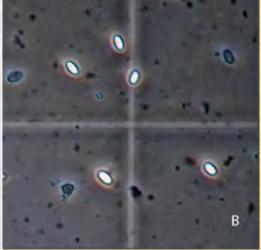
Nosema ceranae et Nosema apis sont des champignons unicellulaires, protozoaires de l'ordre des microsporidies, localisés dans l'intestin, ils déposent des spores, provoquant une dysenterie (diarrhée sanguinolente) appelée la nosémose.

Ce parasite s'installe dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen de l'abeille, où il se reproduit.

La durée du cycle du parasite varie de 3 à 11 jours en fonction de la température. La spore de *Nosema* est ovale, incolore, réfringente de 4,5-6,4 μm par 2,5-3 μm. Visuellement semblable aux levures et spores d'autres champignon μscopique







Les spores, qui permettent la conservation et la dissémination, ont une grande résistance: elles survivent dans:

les excréments diarrhéiques: plus de 2 ans

le sol: de 44 à 71 jours

les cadavres: de 6 jours à 37 °C jusqu'à 120 jours dans un frigo

le miel: de 2 à 4 mois

elles résistent à

la chaleur: 10 minutes à 60 °C la dessiccation: de 2 à 7 mois

la putréfaction: de 5 jours à 3 semaines

la fermentation: de 3 à 11 jours

elles sont détruites par

le soleil: en 15 à 32 heures

les vapeurs d'acide acétique: 2 jours à 10-15 °C

les vapeurs de formol: après 48 heures minimum

Pour se contaminer, l'abeille ingère de la nourriture souillée par les spores. Ensuite, le développement est fonction de la température:

au dessus de 38 °C: le développement cesse

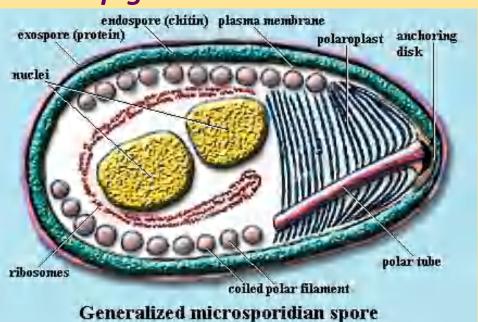
de 30 à 34 °C: le développement est optimal

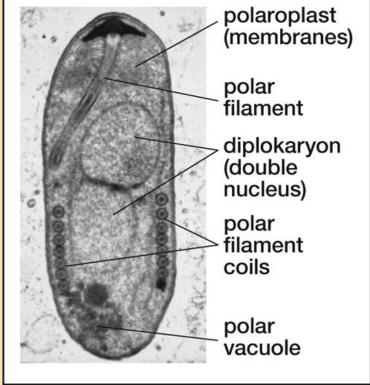
à 25 °C: il ralentit

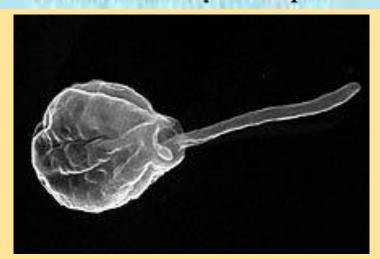
à 10 °C: les spores ne se développent pas

Destruction par javel au 1/5ième

Nosema: microsporidie, champignon unicellulaire

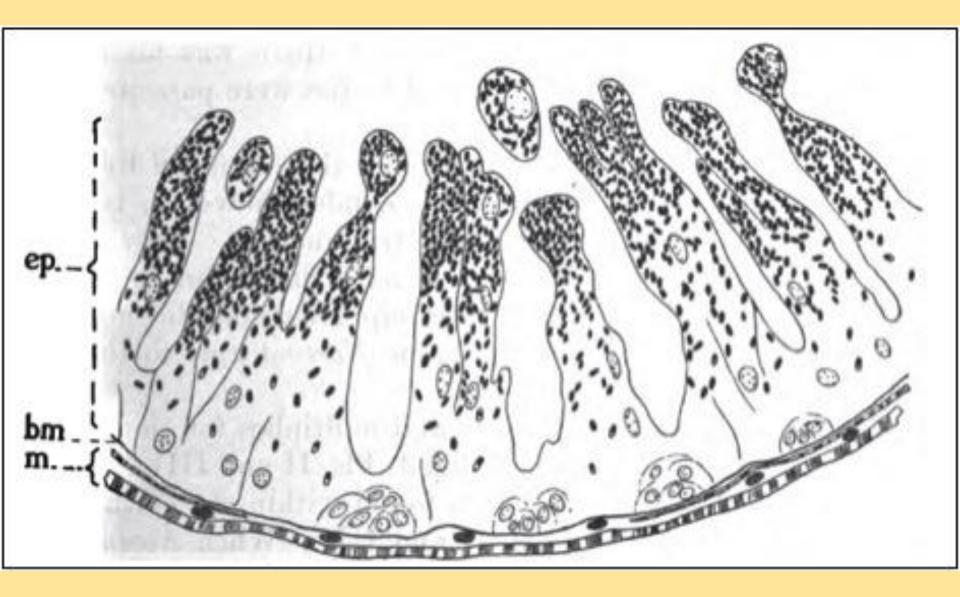








Coupe de l'intestin de l'abeille infectée par Nosema

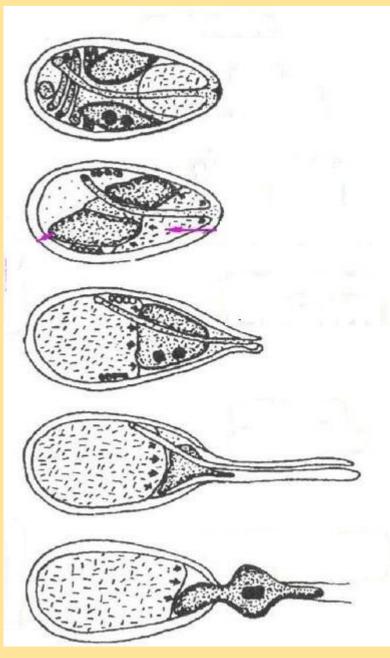




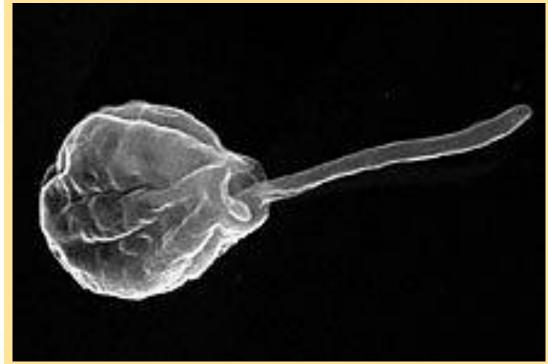
Une spore de microsporidés dévaginant son filament polaire (extrait de Larson, 1986).

Infection des cellules endothéliales du ventricule de l'abeille par N.

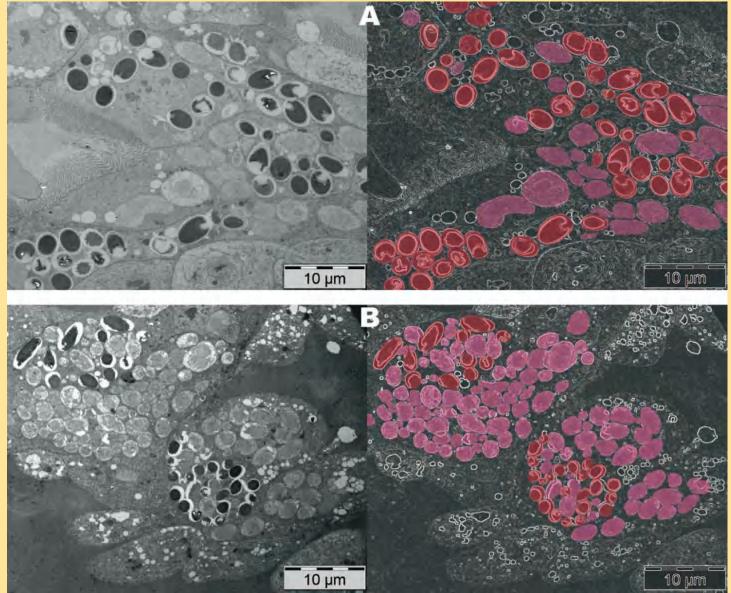
ceranae. Les microsporidés apparaissent
sous forme de petites taches noires dues à la coloration (extrait de Higes
et al. 2006)

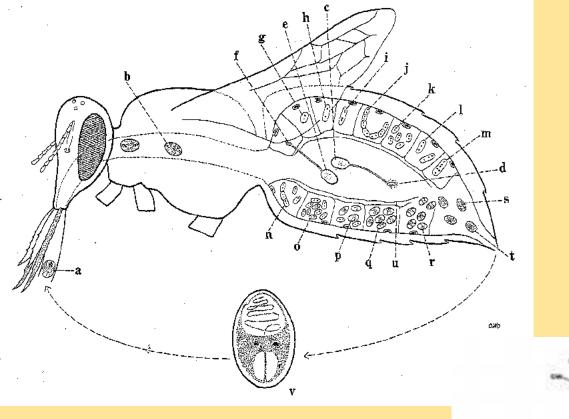


Filament polaire de Nosema



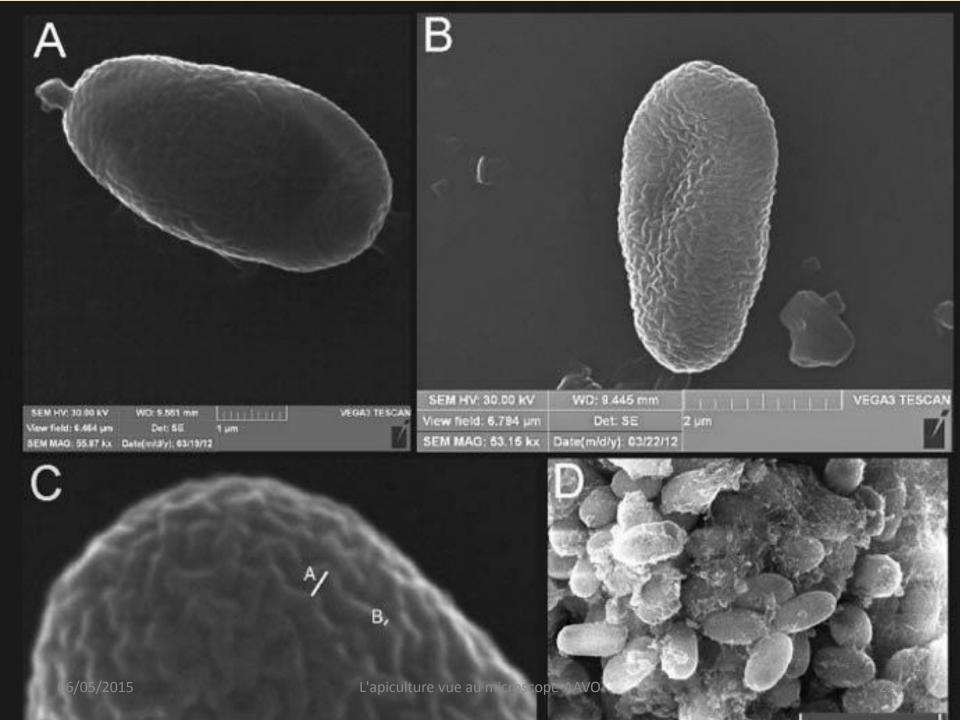
Cellules épithéliales de l'intestin de l'abeille infestée par Nosema





Cycle d'infestation de Nosema





Les cellules intestinales détruites par Nosema ne peuvent plus produire une enzyme qui sert à catalyser l'hydrolyse des aliments en nutriments qui peuvent alors passer dans l'hémolymphe (le « sang ») de l'abeille.

→ carences en protéines et mauvaise digestion qui entraînent une perte d'énergie et une dysenterie (diarrhée).

En conséquence de cette perte d'énergie, l'abeille ne mange plus, puisant dans les réserves destinées aux autres abeilles ou au couvain, ce qui affaiblit la ruche.

Contamination:

La contamination se fait par le pollen et les déjections des abeilles déjà infestées.

Effets sur la ruche:

- Si la reine est touchée par noséma, elle peut devenir stérile ou pondre des œufs de mauvaise qualité (si les ovaires sont abîmés) ou mourir elle aussi. Dans ce cas, il y a deux issues :
- ➤ Si la saison est propice et qu'il reste assez de nourriture pour élever une reine, la ruche se dépêche d'élever une autre reine et la colonie a un sursis
- > Si la saison n'est pas propice ou qu'il ne reste pas assez de nourriture, la ruche est orpheline et s'effondre.

Les jeunes abeilles ont un épithélium qui peut se régénérer moins touchées par noséma.

Effets indirects:

Noséma s'attaque aussi aux cellules macrophages des abeilles . Sans paroi intestinale et sans défense immunitaire, les abeilles sont plus vulnérables aux autres maladies et virus qui, sans obstacle à leur prolifération, peuvent « aider » noséma à tuer les abeilles.

Maladies bactériennes

Paenibacillus larvae (loque US)

Paenibacillus alvei (loque EU) agent associé ou secondaire

Melissococcus plutonius (loque EU) agent principal

Enteroccocus faecalis (loque EU) agent associé ou secondaire

[Destruction par Javel au 1/5 ième]

Loque européenne

Larves mortes en cellules ouvertes. A un stade avancé.

morts avant operculation aussi Odeur spéciale terreuse, argileuse

Larves mortes en cellules operculées. Quelques

Odeur nulle, faible, aigre ou de viande pourrie

aussi larves mortes après operculation

Larves mortes filantes

Ecailles adhérentes

Loque américaine

Ecailles non adhérentes

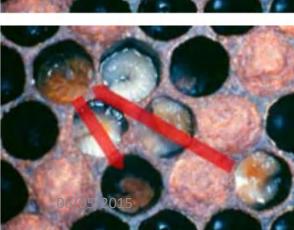
Larves mortes non filantes

Au départ, la larve perd sa couleur blanc nacrée et devient terne, virant progressivement au jaune sale puis au marron. On peut parfois observer sous la « peau » du dos, une petite zone jaune sale,



FU

En se désséchant, elles forment des « écailles »



marron tordues dans des positions variables. **EU**

détachent facilement des parois.

EU

A la fin de l'évolution, les écailles desséchées sont

trouvées au fond des alvéoles. Ces écailles se

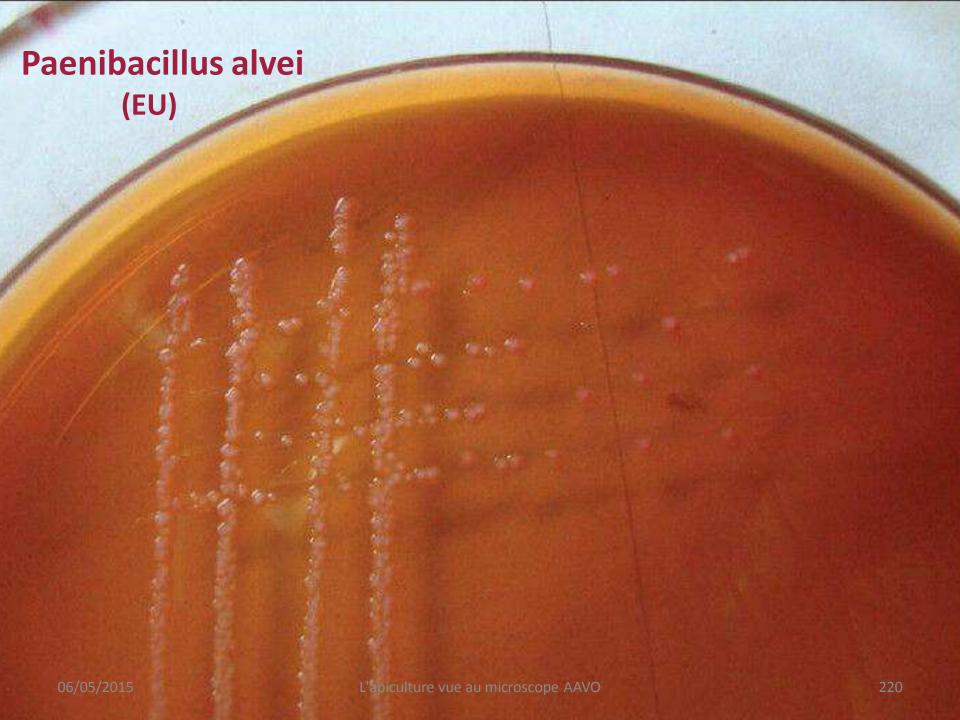
L'apiculture vue au microscope AAVO

Paenibacillus larvae (US)

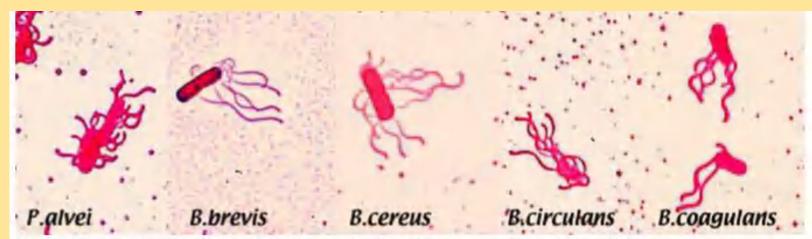
- Découvert par le microbiologiste White en 1904.
- La bactérie vivante = 2 à 5 μ sur 0,7 à 0,8 μ .
- Spores pour survivre en conditions défavorables 1,1 à 1,9 μ sur 0,6 à 0,7 μ.
- C'est une bactérie Gram+.
- Si la bactérie vivante est relativement fragile, les spores sont
- particulièrement résistantes:
 - environ 30 ans dans un milieu naturel ambiant
 - •à la putréfaction
 - •aux basses températures
 - •à l'ébullition: 11 à 14 minutes si les spores sont dans l'eau et jusque 30 minutes si les spores sont dans le miel
- •elles sont détruites
 - •par le formol dilué à 20% pendant 36 à 40 h.
 - •par l'oxyde d'éthylène
 - par les rayons UV et X
- Les spores sont sources de contamination et de dissémination. Pour se contaminer, la larve d'abeille ingère de la nourriture souillée par la bactérie.

Paenibacillus larvae (US)





Paenibacillus alvei (EU) Ciliature de type péritriche

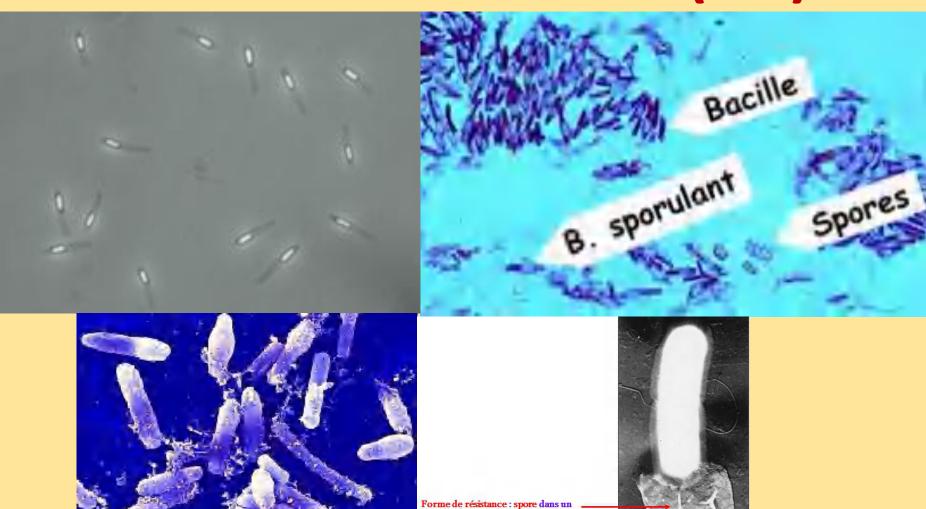


Flagellar stains (Leifson's Method) of various species of bacilli from CDC.



Individual cells of motile bacilli photographed on nutrient agar. About 15,000X magnification. U.S. Dept. of Agriculture. A. B. subtilis; B. P. polymyxa; C. B. laterosporus; D. P. alvei.

Paenibacillus alvei (EU)



environnement favorable permet le développement d'un nouveau Bacillus.

Melissococcus plutonius(EU)

La bactérie mesure environ 1 µ de diamètre, et se trouve souvent groupée en 2 éléments ou une petite chainette. C'est une bactérie Gram+ ne formant pas de spore.

La bactérie survit:

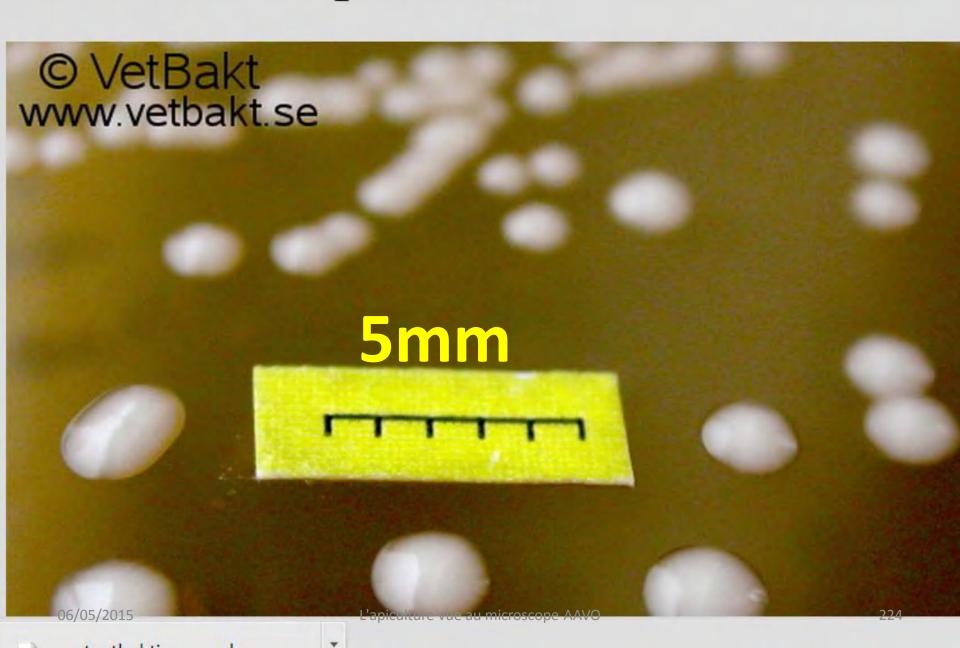
- environ 1 an à la dessiccation
- 20 h à l'exposition directe au soleil
- 25 jours à la putréfaction à température ambiante

Elle est détruite

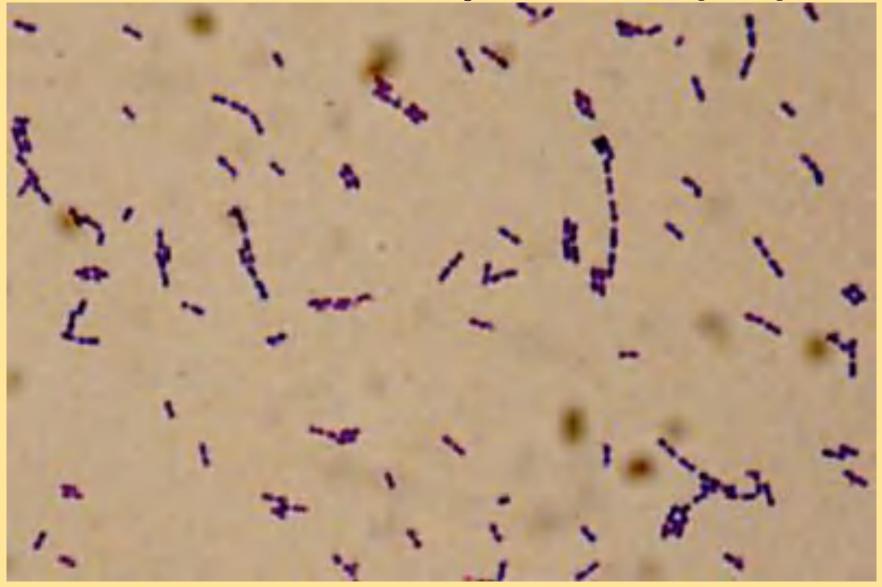
lentement par les antiseptiques

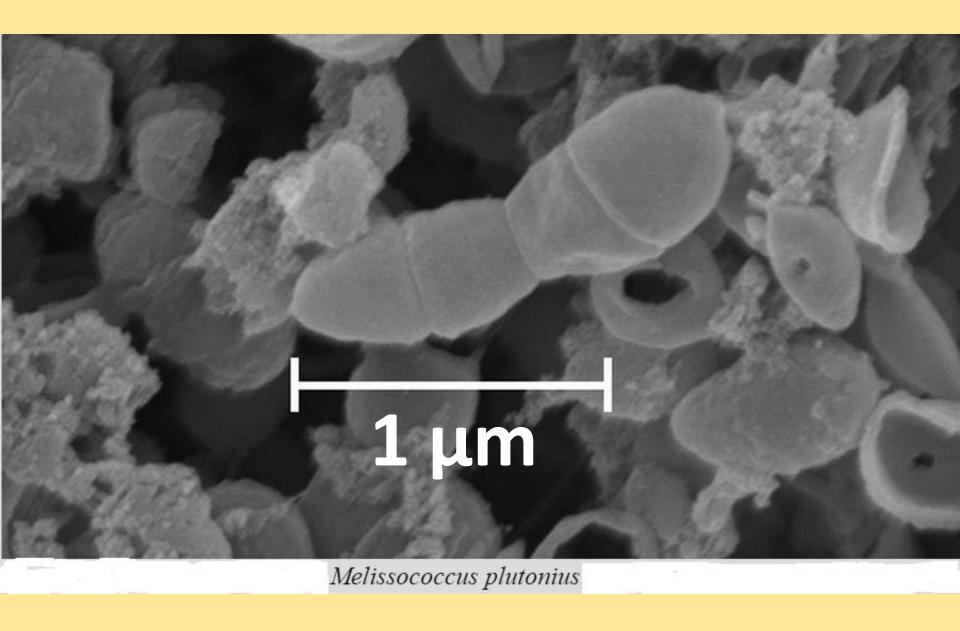
Pour se contaminer, la larve d'abeille de moins de 2 jours ingère de la nourriture souillée par la bactérie. La larve meurt souvent avant même l'operculation.

Melissococcus plutonius



Melissococcus plutonius(EU)



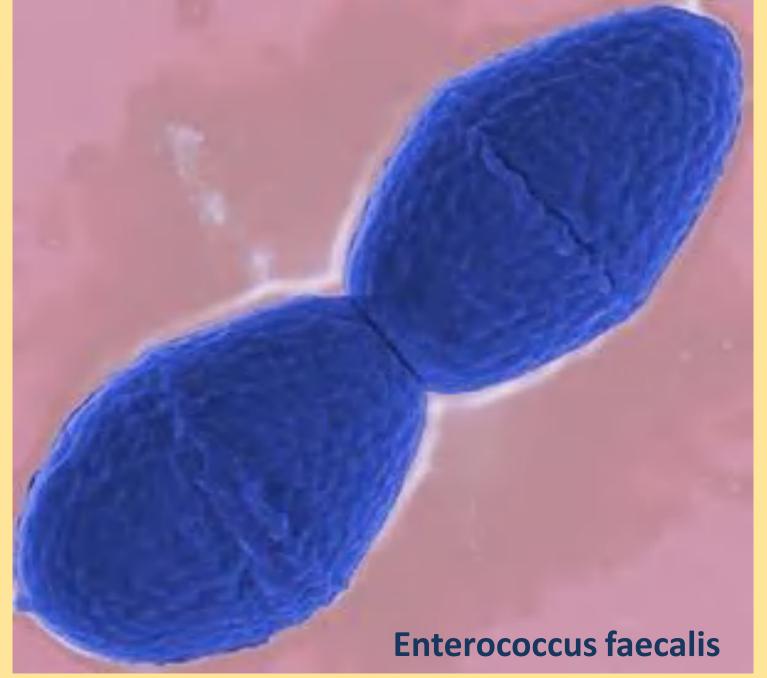


Enterococcus faecalis (EU)

Bactérie Gram +, ne produisant pas de spore. Hôte commensal du tube digestif des mammifères.









VIRUS

- ✓ Un virus est un micro-organisme composé d'une coquille : la capside contenant l'information génétique : un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) et de protéines.
- ✓ Les virus sont beaucoup plus petits qu'une cellule :

Une cellule = 30 000nm

Un virus = 20 000nm

- ✓ Il vit principalement avec son hôte selon un équilibre bien établi jusqu'à l'apparition de conditions favorables à son développement : le virus peut être présent sans qu'il y ait de maladie.
- ✓ La virose est présente sans symptôme, elle s'ajoute à une autre maladie. Ce sont des parasites parfaits
 - Mais l'infection virale tue les individus affaiblis ou sensibles puis s'arrête.
- √ L'infection virale est déclarée :
 - Quand le virus se multiplie très vite chez un individu faible ou sensible et entraîne des symptômes puis une mortalité.(ex : couvain sacciforme, paralysie chronique,)
- ✓ La transmission des virus se fait par contact entre abeilles, nourrissement du couvain, par la reine à ses descendances

Les virus les plus connus chez l'abeille

- Virus de la <u>paralysie aigue</u> APV
- Virus de la <u>paralysie chronique</u> CPV
- Les a<u>iles déformées</u> DWV
- Couvain sacciforme SBV

Les virus les moins connus

- Virus de la <u>cellule royale noire</u> BQVV
- Virus israélien de <u>la paralysie aigue IAPV</u>
- Virus du cachemire KBV
- Virus de la paralysie lente SPPV
- Virus des ailes nuageuses CWV

Les facteurs favorisants

Généralement au stade latent dans les colonies, les virus se déclarent pathogènes suite à des conditions favorables pour leur développement.

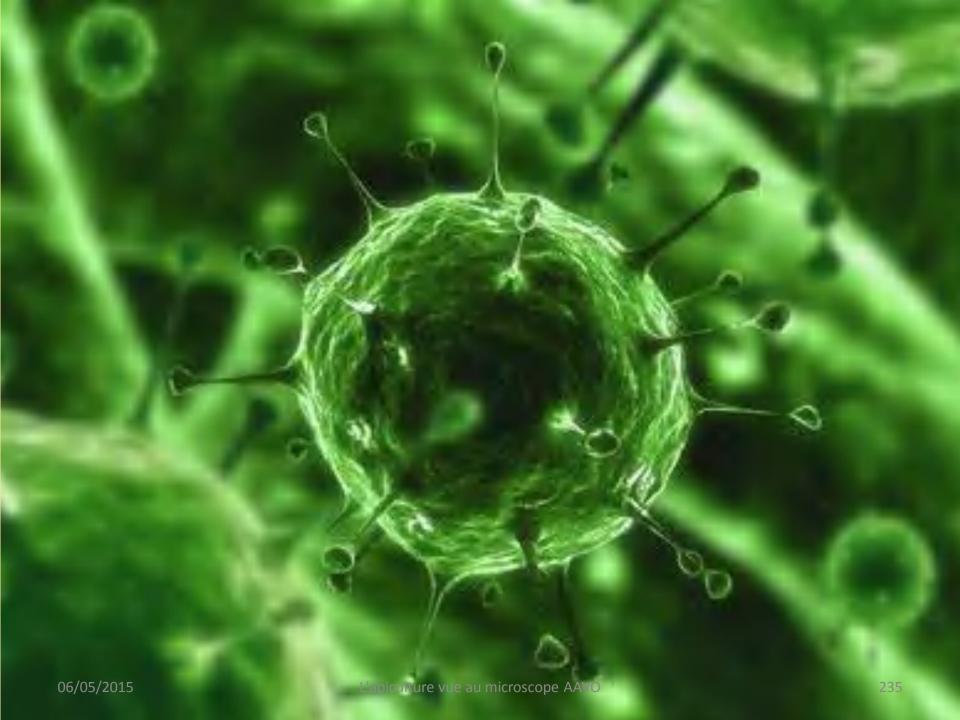
Ils sont difficiles à diagnostiquer.

- ✓ Le <u>varroa</u> est responsable de la multiplication des virus
- ✓ Noséma apis
- ✓ Autres acariens
- ✓ Présence de pesticides
- ✓ Carence nutritionnelle
- ✓ Mauvaises conditions climatiques

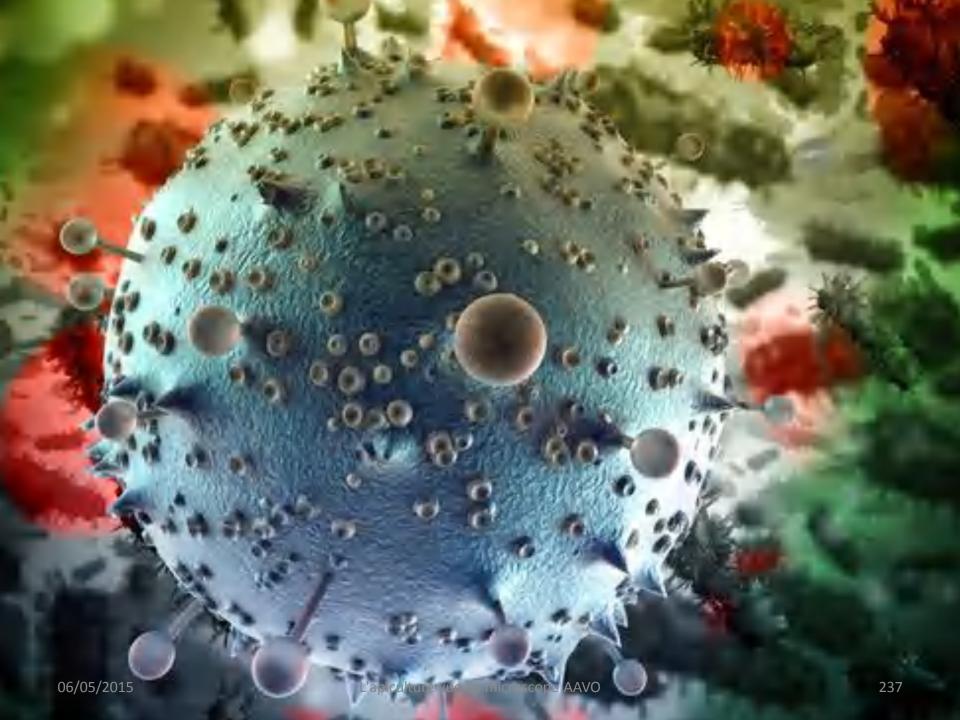
Destruction par Javel au 1/5ième

La plupart des virus de l'abeille et des insectes sont des picornavirus (virus de petites taille) environ 28nm Ø









Polymérase Chain Réaction - PCR

Historique:

Cette méthode de Biologie Moléculaire a été mise au point en 1985 par Kary Mullis, qui obtint pour ces travaux le prix Nobel de Chimie en 1993. Aujourd'hui, ce procédé révolutionnaire couplé à l'utilisation d'une ADN polymérase permet d'obtenir, une amplification considérable d'un fragment donné d'ADN.

Principe:

Amplification in vitro d'une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter.



dépistage des maladies, fongiques, bactériennes, virales

