

## **Etude de l'acidification des nourritures contre *Nosema apis* Zander**

**J-Ph MOTTOUL. Centre d'Etude et d'Information Apicole de Mons.**

Suite aux fortes infestations de nosémoses des années septante, on a découvert au Centre d'Etude et d'Information Apicole de Mons que l'acidification des nourritures d'abeilles permettait de réduire fortement, voire supprimer cette maladie. Depuis 15 ans, et ce chaque année, des expérimentations d'acidification se faisaient sur les colonies en rajoutant aux nourritures soit 2, 4, 8 ml d'acide acétique soit 50 ml de vinaigre de cidre par litre de sirop. On pouvait ainsi contrôler l'infestation de la maladie en fonction des différentes concentrations d'acide avec des ruches témoins (sans acidification).

En générale, 10% des ruches contractaient la maladie et ce aussi bien du coté des ruches acidifiées que du coté des témoins. Mais jamais aucune colonie est morte de la maladie et les ruches infestées se sont toujours remises d'elles mêmes soit parce que les colonies étaient suffisamment fortes, soit parce que les facteurs climatiques s'amélioraient. De plus, ces ruches n'avaient pas le même taux de spores empêchant toute comparaison. De ce fait, il n'a jamais été possible de déterminer, de façon significative, l'action de l'acidification des nourritures.

Pendant l'hiver 1994-1995, les 70 ruches du rucher-école de Mons n'ont reçu aucune nourriture acidifiée. Au printemps, 10 ruches ont contracté la maladie dont 3 de façon aiguë (une en est morte, une autre a cessé sa ponte (reine infectée) et la dernière a gardé un taux élevé de spores toute l'année).

Suite à cette constatation, et en collaboration avec le service du professeur Jacobs de l'université de Gand, j'ai refait ces études en laboratoire de telle façon que les abeilles n'étaient plus influencées par des facteurs extérieurs (force de la colonie, météo,...) et qu'elles avaient toutes le même nombre de spores.

Pour ce faire, on a rempli 105 cagettes (8x6x6cm) avec respectivement 50 abeilles saines. Toutes ces cagettes ont été placées dans une chambre chaude à 30°C et 70 % d'humidité relative.

Quatre études ont ainsi été faites :

### **1) effet de l'acide acétique au point de vue curatif,**

35 cagettes ont été nourries avec du sirop 1/1 contenant des spores de nosémosse de façon à ce que chaque abeille reçoive  $1 \cdot 10^6$  spores (un million de spores) pour obtenir rapidement une forte infestation. Ces abeilles ont été nourries normalement les 6 jours suivants pendant lesquels la maladie évolue. Dès le 7ème jour, des séries de 7 cagettes ont reçu respectivement 0cc, 2cc, 4cc, 8cc et 16cc d'acide acétique glaciale par litre de sirop.

### **2) effet de l'acide acétique au point de vue préventif.**

Dés le premier jour, des séries de 7 cagettes ont été nourries avec les différentes concentrations d'acide. Au

6ème jour elles reçoivent toutes des spores de nosérose comme ci-dessus et ensuite nourries avec le sirop acidifié correspondant.

**remarques :** Des contrôles de mortalité ont été fait régulièrement pour ces deux premiers points.

Les taux d'infestations ont été faits individuellement sur 35 abeilles vivantes par séries et évaluée selon les classes de Gross et Ruttner (classes de 0 à 4 selon le taux d'infestation).

Un témoin de 7 cagettes sans spores et sans acide est aussi fait pour estimer le temps de vie des abeilles confinées.

L'étude sur l'effet curatif à été fait une deuxième fois pour préciser la première étude.

### 3) évaporation de l'acide.

Dans la ruche, le sirop est ventilé par les abeilles pour diminuer le pourcentage d'eau. L'acide est alors susceptible de s'évaporer ou non avec l'eau faisant ainsi varier sa concentration dans le sirop.

Les différents sirops ont été placés dans des boîtes pétri et soumis à évaporation pendant 24h (avant cristallisation de celui-ci). Un dosage de l'acidité par titration avec de l'hydroxyde de sodium 0,1N à été effectué avant et après évaporation.

### 4) contrôle de l'infestation dans les cellules épithéliales.

Des échantillons de ventricules ont été prélevés dans chaque série et ont effectué des coupes histologiques de ceux-ci à l'aide d'un microtome et soumis à une coloration de May-Grünwald et Giemsa afin de visualiser l'infestation et le développement des spores dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen.

#### Résultats et interprétation :

Si on observe le temps de vie de toutes les cagettes, on remarque dans le graphique 1 que les abeilles survivent pendant 12 jours et ce aussi bien celles acidifiées que les témoins contenant des spores mais qui ne sont pas acidifiés (C0cc et P0cc) alors que les témoins (sans spores et sans acide) vivent pendant 24 jours, ce qui nous montre que toutes les abeilles sont mortes de la maladie. On observe cependant que la série préventive et la deuxième série curative recevant 4cc d'acide acétique (P4cc et C4cc2) ont vécu deux jours de plus. Cela peut, dans un premier temps, nous faire penser à un équilibre entre l'action de la maladie et une toxicité possible de l'acide acétique. Cependant, il est difficile au vu des mortalités de constater une action de l'acide acétique sur la maladie.

Evolution de la nosérose  
Tab.I : Série des préventives

Jours	0cc classes	2cc classes	4cc classes	8cc classes	16cc classes
1					
6	1	1	1	1	1
13	2	2	2	1	0
16	3	1	2	1	1



Par contre, les tableaux I et II sur l'évolution de la nosérose en fonction du temps et du taux d'acidification nous permettent d'avancer dans cette étude. En effet, les séries préventives comme les séries curatives ne dépassent pas la classe 2 ( $\pm 50$  spores

par champ microscopique 400X) alors que les témoins (0cc) sont très vite en classe 3. On peut donc affirmer qu'il existe une action de l'acide acétique dans la lumière intestinale de l'abeille sur les spores de *Nosema apis*.

Tab. II : Série des curatives

Jours	0cc1 cl	0cc2 cl	2cc1 cl	4cc1 cl	4cc2 cl	8cc1 cl	8cc2 cl	16cc cl
1								
6	1	1	1	1	1	1	1	1
8		3			1		2	
13	2	3	2	2	2	2	2	2
15		3			2		2	

En effet, lorsque les spores arrivent dans le ventricule de l'abeille, elles éjectent leur germe amiboïde (germe infectant) via leur filament polaire. Or ce germe ne peut vivre dans un milieu acide acétique empêchant ainsi toute infection des cellules épithéliales.

Les coupes histologiques des cellules épithéliales d'abeilles (Photo 1), nous ont montré que l'acide acétique ne pénétrait pas dans les cellules. Les spores alors protégées par les membranes cellulaires ne subissent l'action de l'acide que lorsqu'elles sont éjectées dans la lumière intestinale.

#### Evaporation de l'acide

Tab. III.

sirops acidifiés	éch 1 évaporé	éch 2 évaporé	éch 3 évaporé	éch. non évaporé
2cc	21 méq	24 méq	22 méq	26 méq
4cc	42 méq	43 méq	41 méq	60 méq
8cc	74 méq	74 méq	74 méq	109 méq
16cc	135 méq	135 méq	132 méq	241 méq

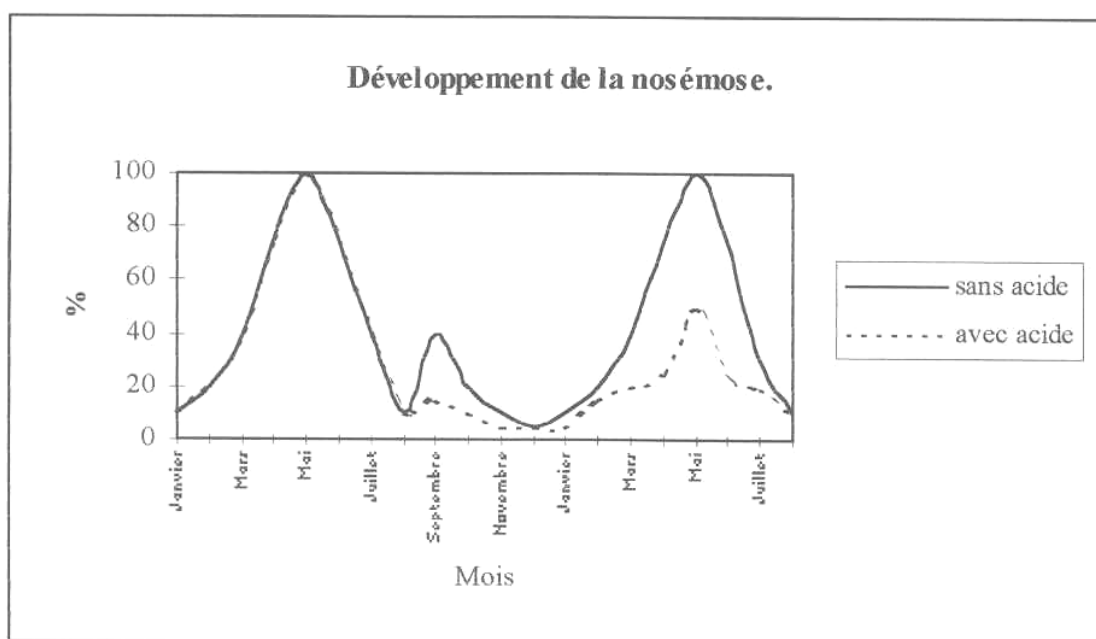
Si l'on se place au niveau de l'évaporation de l'acide, on peut voir dans le tableau III. que la quantité

d'acide dans les sirops (échantillons 1, 2 et 3) ont diminués de 15 à 44% par rapport au sirop non évaporé. Dans la

ruche, le sirop acidifié entreposé par les abeilles en automne dans les alvéoles, place les cadres, à proximités du sirop, dans des vapeurs d'acide acétique les désinfectant ainsi des spores qui pourrat

si trouver (Bailey). Les cadres ainsi nettoyés de la maladie, lors du nourrissage en automne, réduisent fortement l'infection au printemps suivant (voir graphe 2).

Graphe 2:



### Conclusion :

Suite à cette étude, on peut en déduire l'intérêt de l'acide acétique dans les nourritures d'hivers des abeilles au point de vue préventif. En effet, si on prend un dosage de 5cc d'acide par litre de sirop, 30% se dissiperont dans l'environnement immédiat des cadres les désinfectant et empêchant ainsi une réinfection printanière. De plus, au printemps, il restera 4cc pour éliminer les spores se trouvant dans l'intestin moyen d'abeilles infestées extérieurement.

Au point de curatif, l'acide n'a pas suffisamment d'effet sur les abeilles fortement infestées (classe 3 et 4), mais si les abeilles malades sont soignées dès le départ, il n'est pas nécessaire d'avoir

recourt à d'autre médicament tel que le Fumidil.

Des études sont actuellement en cours au Centre d'Etude et d'Information Apicole de Mons afin de déterminer jusqu'à quel stade d'infection les sirops acidifiés par les différentes concentrations ont une action sur la maladie. Ces études feront l'objet de prochains articles.

La bibliographie peut être obtenue par simple demande à l'éditeur responsable