

Diversité et virulence du virus des ailes déformées (DWV) chez deux sous-espèces d'abeilles dans un contexte d'invasion par l'acarien *Varroa destructor* en milieu insulaire tropical et tempéré



Thèse de doctorat sous la direction d'Hélène DELATTE, encadrée par
Nicolas BLOT, Anne BONJOUR-DALMON et Benjamin PELISSIE



Objectifs

1

I. Etudier la diversité des souches virales présentes chez *Apis mellifera* – en particulier celle du Deformed Wing Virus (DWV)

2

II. Etudier l'impact des différentes souches sur *Apis mellifera unicolor* par une approche d'infections expérimentales

1

I. Etudier la diversité des souches virales présentes chez *Apis mellifera* – en particulier celle du Deformed Wing Virus (DWV)



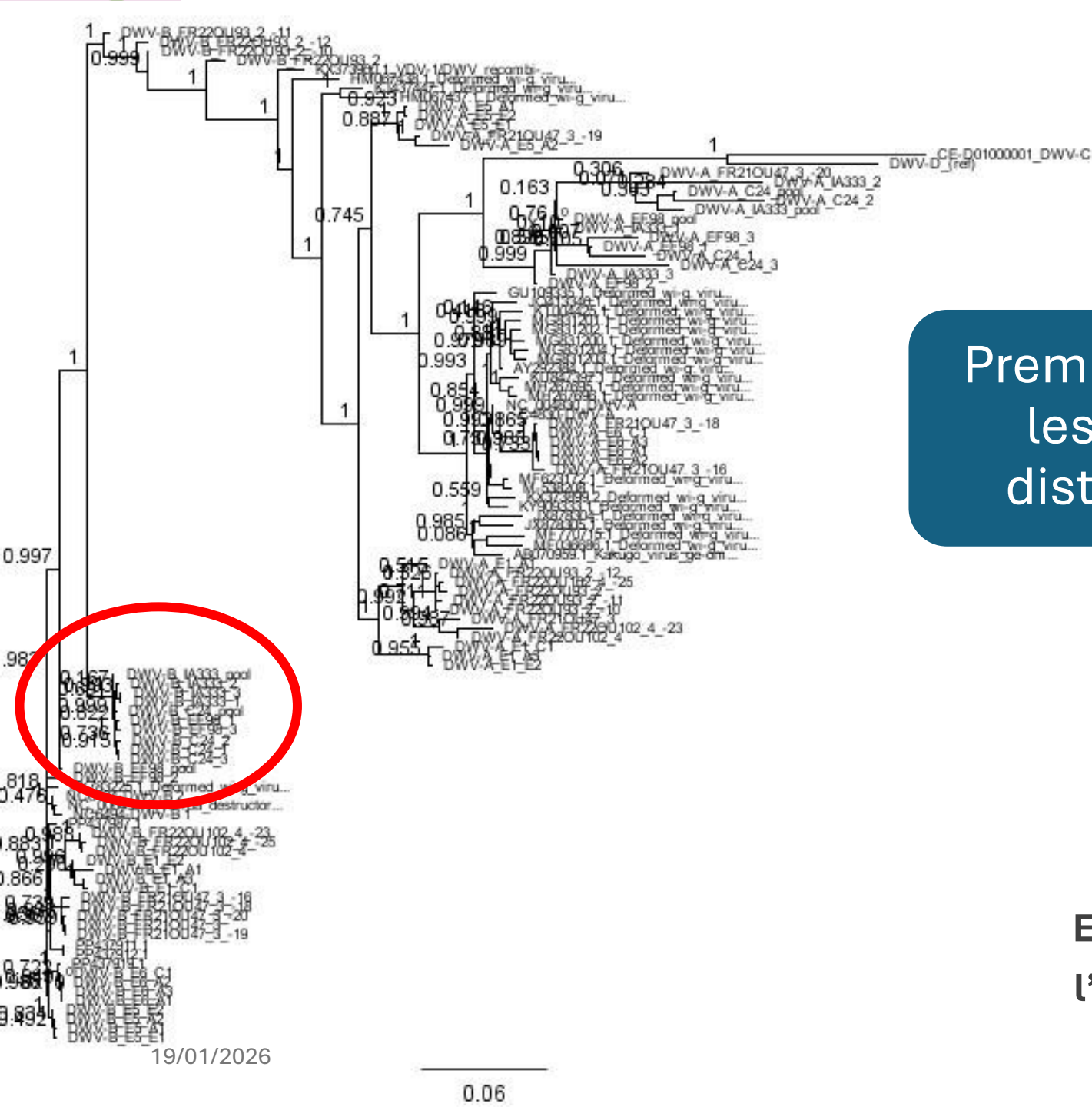
Prélèvements d'échantillons répartis sur le territoire réunionnais

- Echantillonnage **180 ruches**
- Evaluation de **santé globale ruche** (signes clinique, ColEval, V.destructor phorétique...)

Analyses moléculaires

- 6 virus (BQCV, SBV, KBV, ABPV, DWV),
- 2 bactéries (M. plutonius, P. larvae) et
- 2 microsporidies (Nosema ceranae, N. apis)
- Quantification de 2 virus (CBPV & DWV)

Séquençage des échantillons



Premières données : indiquent que les souches réunionnaises se distinguent des autres souches

Poursuite de l'analyse d'une importante banque d'échantillons

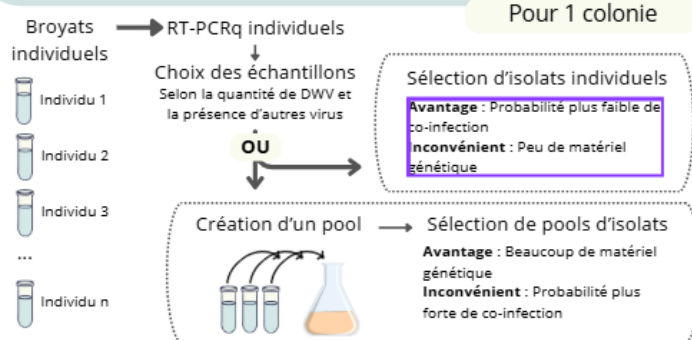
Etudier la diversité des souches à l'échelle du territoire réunionnais

2

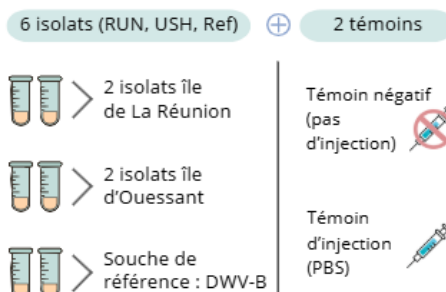
II. Etudier l'impact des différentes souches sur *Apis mellifera unicolor* par une approche d'infections expérimentales

1 PREPARATION DES ISOLATS

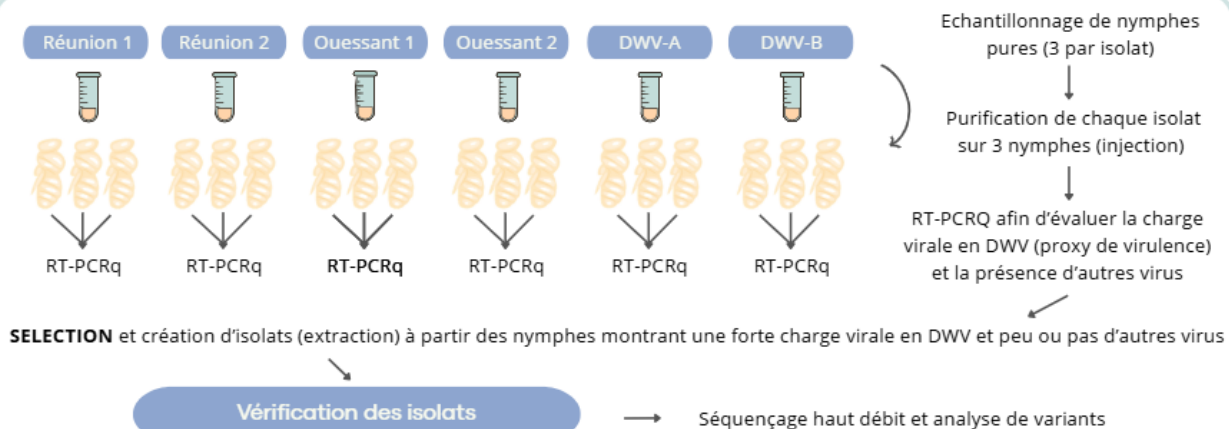
BROYAGES ET SÉLECTION DES ISOLATS



ISOLATS FINAUX : 8 traitements au total



2 PURIFICATION ET MULTIPLICATION DES ISOLATS



3

ECHANTILLONNAGE, INJECTIONS ET ELEVAGE

Pour 1 répétition (n=3)

A

Echantillonnage et Injection

Prélèvement de 16 nymphes stade yeux blancs / colonie (3) / traitement (8) / répétition (3)

16x8 = 128
ind/col/rep

16x3x8x3
= 1152 ind

16x8x3 = 384
ind/col

Injection

49nL d'inoculum de PB (phosphate buffer) + DWV à 5×10^4 copies, injecté entre le 3ème et le 4ème tégment



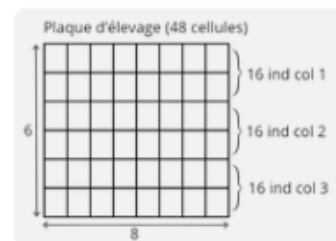
B

Mise en plaque - Conditions d'élevage

Chaque plaque contient 16 individus de chaque colonie (3 colonies) :

1 plaque / traitement (8) / répétition (3)
→ 8 plaques par répétition (Total : 24)

Mise en plaque des individus injectés



Chaque plaque est placée dans une boîte fermée aérée

Chaque boîte est placée dans un caisson de dessiccation Nalgène - 1 caisson par groupe d'isolats (réunion, Ouessant, références, témoins) → 4 caissons au total

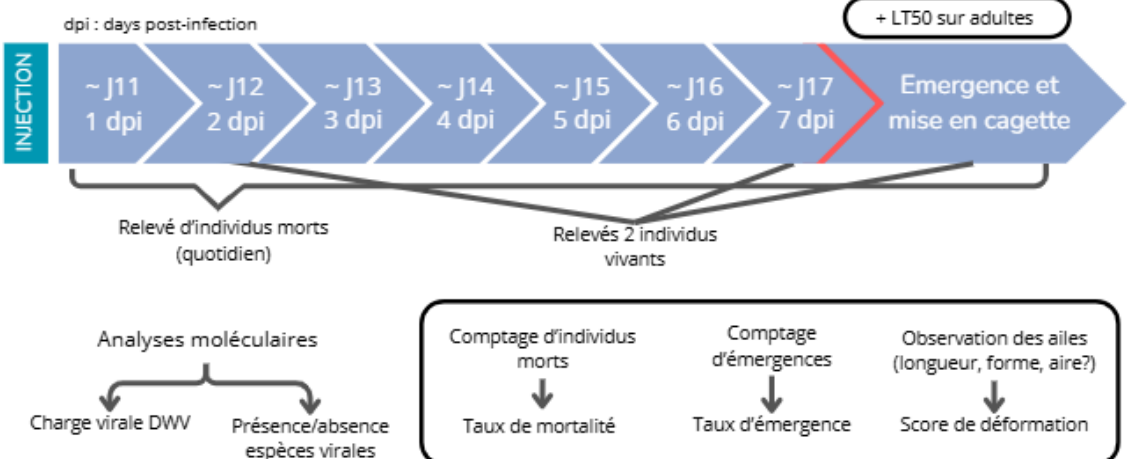


Chaque caisson est équipé d'une solution saturée de NaCl pour limiter l'humidité ambiante et d'une cagette/plaque pour placer les émergences

Les caissons sont placés dans un rototran à 34°C, hygrométrie 70%, photopériode 12:12

C

Suivi d'élevage et observation des symptômes



II. Etudier l'impact des différentes souches sur *Apis mellifera unicolor* par une approche d'infections expérimentales

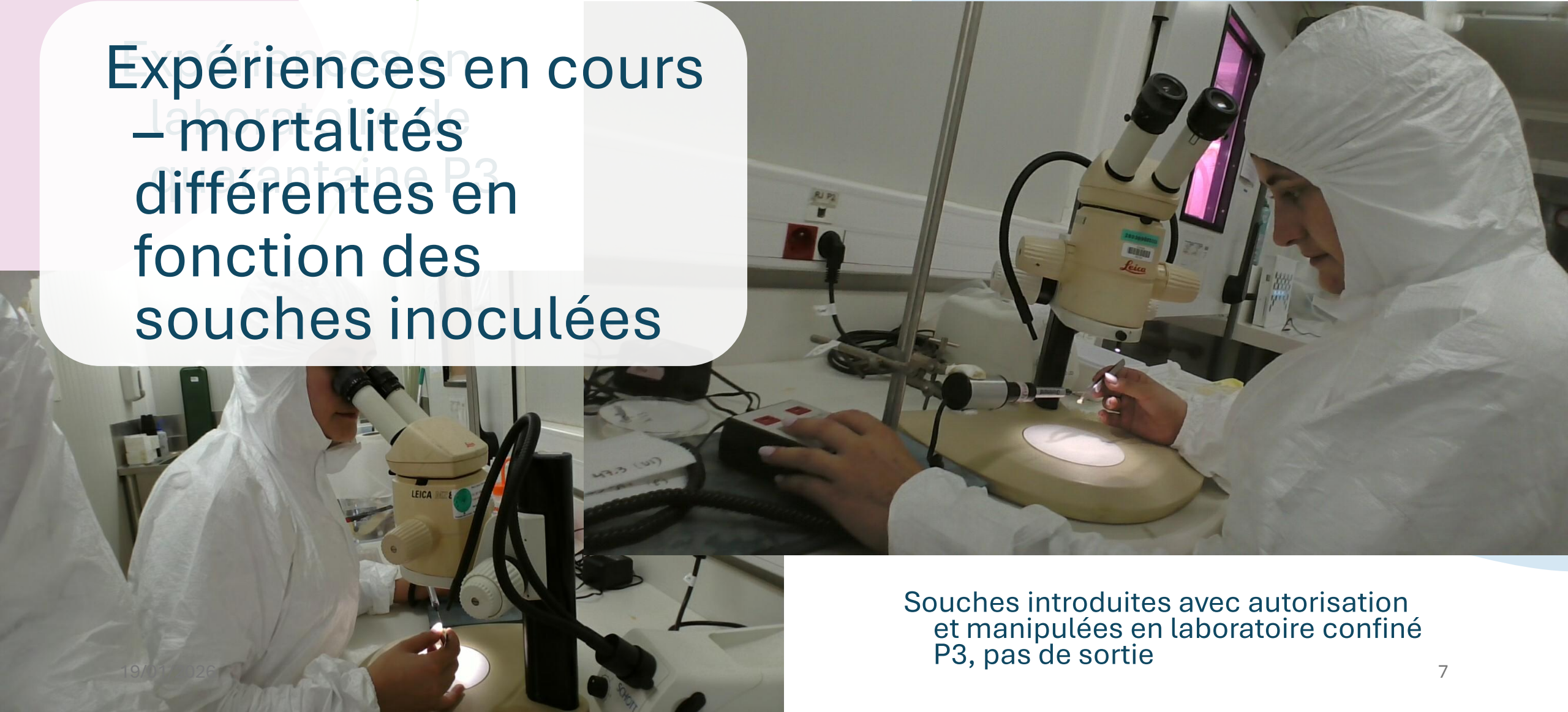
Expériences en laboratoire de quarantaine P3



Souches introduites avec autorisation
et manipulées en laboratoire confiné
P3, pas de sortie

II. Etudier l'impact des différentes souches sur *Apis mellifera unicolor* par une approche d'infections expérimentales

Expériences en cours
– mortalités
différentes en
fonction des
souches inoculées



Souches introduites avec autorisation
et manipulées en laboratoire confiné
P3, pas de sortie

Merci pour votre attention !

