



# **Lutte biologique contre le parasite apicole *Varroa destructor* à l'aide de l'acarien prédateur *Stratiolaelaps scimitus***

**Mémoire**

**Sabrina Rondeau**

**Maîtrise en biologie végétale - avec mémoire**  
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Sabrina Rondeau, 2018

**Lutte biologique contre le parasite apicole  
*Varroa destructor* à l'aide de l'acarien prédateur  
*Stratiolaelaps scimitus***

**Mémoire**

**Sabrina Rondeau**

Sous la direction de :

Valérie Fournier, directrice de recherche  
Pierre Giovenazzo, codirecteur de recherche

## Résumé

En se nourrissant de l'hémolymphe et des corps gras de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et en lui transmettant de nombreux virus, l'acarien parasite *Varroa destructor* (Acari : varroidae) constitue la principale cause de mortalité des colonies d'abeilles. Les traitements chimiques présentement utilisés pour lutter contre le varroa comportent plusieurs désavantages, tels que le développement de résistance de l'acarien aux acaricides de synthèse et une toxicité variable pour l'abeille. Via l'utilisation d'ennemis naturels du parasite, la lutte biologique pourrait représenter une avenue durable et sécuritaire pour la santé des colonies. L'objectif principal de cette étude était de tester l'efficacité de l'acarien prédateur *Stratiolaelaps scimitus* (Acari : Lealapidae) comme moyen de lutte biologique contre le varroa. Une étude du comportement alimentaire du prédateur a d'abord été réalisée afin d'évaluer le risque de prédation du couvain d'abeille (œufs, larves et pupes) par *S. scimitus*, ainsi que son potentiel de prédation envers les varroas phorétiques (se trouvant sur le corps des abeilles adultes). Des essais in vivo ont ensuite permis d'évaluer l'efficacité de deux doses d'introduction du prédateur (6 250 ou 12 500 acariens/colonie) à contrôler les populations de varroa dans les colonies d'abeilles en septembre (en comparaison avec l'acaricide biologique Thymovar®) et en novembre (en comparaison avec l'acide oxalique). Bien que *S. scimitus* soit capable de s'alimenter sur tous les stades de développement de l'abeille en laboratoire, nos résultats suggèrent que le prédateur ne représente pas une menace pour le couvain lorsqu'il est introduit dans la colonie. Par contre, nos résultats démontrent que le prédateur n'est pas en mesure de contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles sous les conditions testées, c'est-à-dire lorsqu'il est introduit à l'automne selon la dose actuellement recommandée par certains distributeurs. Cette inefficacité est probablement liée à l'incapacité du prédateur à s'attaquer aux varroas phorétiques.

## Abstract

By feeding on the hemolymph and fat bodies of the honey bee (*Apis mellifera* L.) and transmitting many viruses, the parasitic mite *Varroa destructor* (Acari: varroidae) is considered as the main cause of honey bee colony losses. The use of chemicals in varroa control shows many disadvantages, such as the development of mite resistance to synthetic acaricides and a variable toxicity for bees. Through the use of natural enemies, the biological control of varroa mites could represent a sustainable and safe avenue for colony health. The main objective of this study was to test the effectiveness of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Lealapidae) as a means of biological control against varroa mites. A study of the predator's feeding behaviour was first performed to evaluate the risk of predation of bee brood (eggs, larvae and pupae) by *S. scimitus*, as well as its predation potential upon phoretic varroa mites (varroa parasitizing adult bees). In vivo trials were then carried out to evaluate the effectiveness of two predator introduction rates (6,250 or 12,500 mites / colony) to control varroa populations in honey bee colonies in September (compared to the organic acaricide Thymovar®) and in November (compared to oxalic acid). Although *S. scimitus* is able to feed on all bee developmental stages in the laboratory, our results suggest that the predator does not pose a threat to the bee brood when introduced into the colony. On the other hand, our results demonstrate that the predator is not able to control varroa populations in bee colonies under the tested conditions, that is, when it is introduced in fall according to the rate currently recommended by some biocontrol suppliers. This ineffectiveness is probably related to the inability of the predator to attack phoretic varroa mites.

# Table des matières

Résumé .....	III
Abstract .....	IV
Table des matières .....	V
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Remerciements .....	X
Avant-propos .....	XII
<b>Chapitre 1 : Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Importance de l'abeille domestique .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Régie et cycle de production apicole au Québec.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Menaces et pertes de colonies .....</b>	<b>5</b>
1.3.1 Situation sur la perte de colonies d'abeilles .....	5
1.3.2 Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique.....	5
<b>1.4. <i>Varroa destructor</i> .....</b>	<b>7</b>
1.4.1 Historique et répartition géographique .....	7
1.4.2 Caractéristiques morphologiques et cycle de vie .....	8
1.4.3 Impact de la varroase sur la santé des colonies d'abeilles .....	9
1.4.4 Dynamique des populations de <i>Varroa destructor</i> .....	14
1.4.5 Lutte intégrée contre la varroase.....	17
1.4.6 Surveillance et dépistage du varroa .....	17
1.4.7 Méthodes de contrôle et options de traitement .....	20
<b>1.5. <i>Stratiolaelaps scimitus</i> .....</b>	<b>26</b>
1.5.1 Description .....	26
1.5.2 Biologie et écologie .....	27
1.5.3 <i>Stratiolaelaps scimitus</i> comme agent de lutte biologique.....	29
1.5.4 <i>Stratiolaelaps scimitus</i> comme agent de lutte contre le varroa .....	30
<b>1.6. Objectifs et hypothèses de recherche .....</b>	<b>31</b>
1.6.1 Objectif général.....	31
1.6.2 Premier volet.....	31
1.6.3 Deuxième volet .....	32
1.6.4 Troisième volet.....	32
<b>1.7. Approche méthodologique.....</b>	<b>33</b>
<b>Chapitre 2 : Risk assessment and predation potential of <i>Stratiolaelaps scimitus</i> (Acari: Laelapidae) to control <i>Varroa destructor</i> (Acari: Varroidae) in honey bees .....</b>	<b>34</b>
Résumé .....	35
Abstract.....	36
Introduction .....	37
<b>Materials and Methods .....</b>	<b>39</b>
Livestock sources and maintenance.....	39
<i>In vitro</i> assessment of <i>S. scimitus</i> predation upon <i>V. destructor</i> and bee brood .....	39
Prey preference test.....	40

<i>In vivo</i> assessment of <i>S. scimitus</i> predation upon bee brood .....	40
<i>S. scimitus</i> predation of phoretic varroa mites .....	41
Data analyses .....	42
<b>Results.....</b>	<b>42</b>
<i>In vitro</i> assessment of <i>S. scimitus</i> predation upon <i>V. destructor</i> and bee brood .....	42
Prey preference test.....	42
<i>In vivo</i> assessment of <i>S. scimitus</i> predation upon bee brood .....	43
<i>S. scimitus</i> predation of phoretic varroa mites .....	43
<b>Discussion.....</b>	<b>43</b>
<b>Acknowledgments .....</b>	<b>48</b>
<b>References.....</b>	<b>49</b>
<b>Appendix 1. Tables and Figures. ....</b>	<b>54</b>
<b>Appendix 2. Additional monitoring of <i>S. scimitus</i> predation upon bee brood using observation hives.....</b>	<b>59</b>
Methods .....	59
Results .....	60
<b>Chapitre 3: The use of the predatory mite <i>Stratiolaelaps scimitus</i> (Acari: Laelapidae) to control <i>Varroa destructor</i> (Acari: Varroidae) in Honey bee colonies in early and late fall .....</b>	<b>62</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>63</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>64</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>65</b>
<b>Materials and Methods.....</b>	<b>67</b>
Honey Bee Colonies.....	67
Predatory Mite Sources.....	67
Fall treatment.....	67
Complementary treatment .....	68
Temperature records .....	69
Statistical analysis.....	69
<b>Results.....</b>	<b>70</b>
Fall treatment.....	70
Complementary treatment .....	71
<b>Discussion.....</b>	<b>72</b>
<b>Acknowledgments .....</b>	<b>76</b>
<b>References.....</b>	<b>77</b>
<b>Appendices.....</b>	<b>81</b>
<b>Chapitre 4 : Conclusion générale.....</b>	<b>84</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>88</b>

# Liste des tableaux

Tableau 1. Maladies de l'abeille domestique fréquemment rencontrées. ....	6
Tableau 2. Description de quelques méthodes de dépistage de la varroase les plus souvent utilisées. ....	19
Table 3. Status of <i>Varroa destructor</i> (female adults) and five different honey bee brood stages after a maximum of 24h of confinement with <i>Stratiolaelaps scimitus</i> under laboratory conditions. ....	56
Table 4. Number of predation events based on the first prey chosen by <i>Stratiolaelaps scimitus</i> during a preference test and the time (h) elapsed before the predation occurred.....	57
Table 5. Daily ambient temperatures recorded during the treatment of honey bee colonies against varroa mites between September 11 and October 16, 2017 (fall experiment) and between November 13 and December 11, 2017 (complementary treatment). ....	81
Table 6. Effectiveness of two rates (low = 6,250 mites/colony ; high = 12,500 mites/colony) of the predatory mite <i>Stratiolaelaps scimitus</i> to reduce varroa mite populations in honey bee colonies during fall, in comparison with untreated colonies (control) and Thymovar®, and total numbers of fallen varroa mites used to calculate these (mean ± SE).....	82
Table 7. Effectiveness of the predatory mite <i>Stratiolaelaps scimitus</i> (± 6 250 mites/colony) to reduce varroa mite populations in honey bee colonies in late fall, in comparison with untreated colonies (control) and oxalic acid, and total numbers of fallen varroa mites used to calculate these (mean ± SE). ....	83

## Liste des figures

Figure 1. Modélisation de l'effet de différents niveaux d'infestation par <i>V. destructor</i> en début de saison sur la croissance subséquente de la population..	15
Figure 2. Modélisation de l'effet de l'apport de nouveaux varroas sur l'évolution du nombre de parasites au sein d'une colonie d'abeilles..	16
Figure 3. Calendrier de contrôle de la varroase conçu pour être utilisé par les apiculteurs du Québec comme aide-mémoire durant toute la saison apicole.....	18
Figure 4. Femelle <i>Stratiolaelaps scimitus</i> adulte.....	27
Figure 5. Experimental arenas used during: (A) the <i>in vitro</i> assessment of <i>S. scimitus</i> predation upon <i>V. destructor</i> and bee brood, and (B) the assessment of <i>S. scimitus</i> predation of phoretic varroa mites.....	55
Figure 6. Occurrence of predation of <i>Varroa destructor</i> (female adults) and five different honey bee brood stages by the predatory mite <i>Stratiolaelaps scimitus</i> , after 12h and 24h of confinement in experimental arenas. ....	55
Figure 7. The predatory mite <i>Stratiolaelaps scimitus</i> feeding on a female varroa mite (A) and a honey bee egg (B) under laboratory conditions. After being attacked by <i>S. scimitus</i> , the varroa showed characteristic signs of predation (C) such as missing legs and holes in the cuticle (arrow). ....	55
Figure 8. Proportion of honey bee eggs and varroa mites first chosen by <i>Stratiolaelaps scimitus</i> during a preference test where both prey were offered simultaneously (n=30) to ten starved <i>S. scimitus</i> individuals. ....	56
Figure 9. Effect of the inoculation of honey bee colonies (n=5) with $\approx 12,500$ <i>Stratiolaelaps scimitus</i> individuals on the mean proportion of bee brood survival from the eggs to the pupae in comparison with untreated colonies (control; n=3).....	57
Figure 10. Kaplan-Meier survival curves of the phoretic varroa mites when confined in experimental arenas with 20 starved <i>Stratiolaelaps scimitus</i> individuals (n=40) or none (control; n=38)..	58
Figure 11. Average ( $\pm$ SE) weekly number of fallen varroa mites in honey bee colonies before and during the fall treatment period, as well as during the follow-up treatment with Apivar®..	82
Figure 12. Average ( $\pm$ SE) weekly number of fallen varroa mites in honey bee colonies before and after the application of complementary varroa treatments (November 13, 2017; week 0) in Quebec (Canada), as well as during a follow-up treatment with CheckMite+® (April 24, 2018; week 5).....	83



*À ma famille*

# Remerciements

J'aimerais d'abord remercier ma directrice **Valérie Fournier** ainsi que mon codirecteur **Pierre Giovenazzo** pour leur aide précieuse et leur soutien tout au long de ces deux dernières années. Je suis grandement reconnaissante d'avoir pu bénéficier de votre expertise, de votre savoir et de vos bons conseils. Chacun à votre manière, vous avez su me conforter dans mon choix de poursuivre des études graduées et avez alimenté mon intérêt pour le monde des abeilles. Merci pour votre confiance et vos encouragements.

Je remercie du fond du cœur mes merveilleux collègues **Amélie Gervais, Frédéric McCune, Marianne Lamontagne-Drolet, Mélanie Normandeau Bonneau, Mouna Kahia, Phanie Bonneau et Stéphanie Patenaude**. Merci d'avoir été là dans les bons – comme dans les moins bons – moments. Vous avez été source de réconfort, de divertissement, d'encouragement (et parfois de dérangement et de procrastination...). Merci d'avoir teinté cette aventure d'un brin de folie. Vous avez contribué à faire de mon passage à la maîtrise une expérience inoubliable.

Merci aux Drs **Conrad Cloutier et Ernesto Guzman** pour l'évaluation de ce mémoire et leurs précieux commentaires. Merci également à **Véronique Martel et Conrad Cloutier** pour l'évaluation des différents séminaires réalisés au cours de ma maîtrise, ainsi que pour leurs conseils.

Merci à toute l'équipe apicole du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) pour leur aide inestimable tout au long du projet. Plus particulièrement, merci à **Georges Martin et Martine Bernier** pour leurs précieux conseils et leur disponibilité, ainsi qu'à **Michaël Benoit et Marilène Paillard** pour leur accompagnement et leur travail de moine sur le terrain. Un énorme merci à **Anne Leboeuf et Yvan L'Homme** (Rucher des Basses Terres) pour nous avoir donné accès à du couvain d'abeille lors de la première année du projet. Merci également à **Adam Spencer et Brian Spencer** (Applied Bio-nomics Ltd.) de nous avoir gracieusement fourni le prédateur *Stratiolaelaps scimitus* tout au long de nos essais, ainsi que pour leurs conseils concernant l'écologie du prédateur.

J'aimerais également souligner le grand soutien et la contribution en nature du **CRSAD**, sans lesquels ce projet n'aurait pu avoir lieu. Merci également à nos partenaires financiers : la **North American Pollinator Protection Campaign (NAPPC)** et la **Eastern Apiculture Society (EAS)** pour avoir financé nos essais sur le terrain; le **Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG)**, le **Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT)** et la **Fédération canadienne des femmes diplômées des universités (FCFDU)** pour l'attribution de bourses de recherche.

Je ne pourrais passer sous silence l'aide précieuse de tous les professionnels, stagiaires et assistants de recherche ayant participé au projet. Merci à **Olivier Samson-Robert** pour son aide à l'élaboration des premiers protocoles et ses précieux conseils lors de la première année d'essais. Merci à **Catherine Bolduc**, **Marine Daniel**, **Romain Exiro**, **Aurélié Boilard**, **Audrey Boivin**, **Thaïs Andro**, **Guillaume Guengard**, **Clémence Landreau**, **Lucie Alexandre** et **Andréa Duclos** pour leur aide inestimable au laboratoire et sur le terrain. Je tiens également à exprimer ma reconnaissance envers **Awa Diop** pour son aide et ses conseils tout au long du processus d'analyses statistiques.

Merci à mes parents, **Guylaine Charette** et **Serge Rondeau**, qui – sans complètement comprendre à quoi j'ai occupé mes journées au cours de ces deux années de maîtrise – n'ont jamais remis mon choix de carrière en doute. Par votre écoute, votre soutien et vos encouragements, vous avez contribué de façon non négligeable à la réussite de ce projet. Merci également à mes frères et sœurs (**Stéphanie**, **Stéphane**, **Sophie**, **Sonia** et **Simon Rondeau**), d'avoir été là pour répondre à cette nécessité parfois criante de lâcher prise (ma santé mentale vous en remercie!).

Finalement, merci à mon partenaire de vie **Sébastien Rousseau** pour son soutien, sa patience et sa compréhension. Merci de m'avoir suivi et appuyé dans cette aventure, comme dans bien d'autres! Merci de me soutenir quotidiennement dans mes folies et mon projet de carrière. Sache que tu es ma plus grande source d'encouragements depuis ces dix dernières années. Je t'aime.

# Avant-propos

Les chapitres 2 et 3 de ce document constituent le corps du mémoire et sont présentés sous forme d'articles scientifiques rédigés en anglais. Les autres sections de ce mémoire, dont l'introduction et la conclusion générale ont été rédigées en français.

Le chapitre 2 intitulé « Risk assessment and predation potential of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bees » a été soumis le 18 avril 2018 au journal scientifique PLOS ONE (identifiant : PONE-D-18-11632) , tandis que le chapitre 3 intitulé « The use of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies in early and late fall » a été soumis pour publication dans le périodique scientifique Journal of Economic Entomology le 28 juin 2018 (identifiant : ECONENT-2018-0417).

L'ensemble des éléments nécessaires à la production de ce mémoire, tels que l'élaboration des protocoles de recherche, la récolte et l'analyse des données, l'interprétation des résultats ainsi que la rédaction des textes, est issu de la candidate. Les chapitres 2 et 3 ont été rédigés en collaboration avec Valérie Fournier (directrice), Ph. D., professeure-chercheuse en entomologie à l'Université Laval et Pierre Giovenazzo (codirecteur), Ph. D., professeur-chercheur en biologie et titulaire de la Chaire de leadership en enseignement en sciences apicoles de l'Université Laval. En effet, leurs corrections et suggestions ont contribué à l'amélioration des textes présentés dans ce mémoire.

# **Chapitre 1 : Introduction générale**

## 1.1. Importance de l'abeille domestique

L'abeille domestique, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) est sans contredit l'espèce d'abeille la plus connue et la plus utilisée à travers le monde. Indigène de l'Europe, de l'Afrique et de l'Asie, l'espèce a été introduite au Nouveau Monde (Amérique, Australie, Océanie) suite à sa domestication par l'homme (Han et al., 2012). Cette domestication remonte à 2 600 ans av. J-C., en Égypte antique, où on utilisait *A. mellifera* pour sa production de miel (vanEngelsdorp & Meixner, 2010).

Ainsi exploité par l'homme depuis plusieurs millénaires, le miel demeure un produit d'importance économique dans de nombreuses régions du monde. À l'échelle nationale, le Québec possédait environ 7% des colonies d'abeilles du Canada en 2014 (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2016). En 2015, la valeur de la production de miel était estimée à 232 millions de dollars au Canada (Statistique Canada, 2015) et à 13,9 millions de dollars au Québec (Institut de la statistique du Québec, 2015). En outre, le Canada est un pays exportateur de miel puisqu'on y produit plus de miel que la quantité consommée au pays. L'Alberta, la Saskatchewan et le Manitoba sont considérées comme les plus grandes provinces canadiennes exportatrices, tandis que l'Ontario et le Québec sont d'importants importateurs de miel (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2016). Au Canada, en 2014, le miel importé provenait principalement du Brésil (19%), de l'Argentine (17%), de la Nouvelle-Zélande (14%) et des États-Unis (12%) (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2016).

Évidemment, l'importance économique de l'abeille ne se limite pas à la production du miel. Au contraire, l'abeille domestique joue un rôle important pour la pollinisation de nombreuses cultures à vocation alimentaire (Chopra et al., 2015; Klein et al., 2007; Potts et al., 2010; Winfree et al., 2011). Au Canada, plusieurs cultures bénéficient d'une augmentation de rendement suite à la pollinisation par l'abeille domestique, dont celle de la pomme, du bleuet, du soya et du canola (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2016). Selon Agriculture et Agroalimentaire Canada (2016), la contribution économique liée aux services de pollinisation effectués par *A. mellifera* était estimée à 2,05 milliards de dollars en 2013, soit nettement plus que pour la production de miel et autres produits de la ruche. Au Québec, en 2015, près de 45 000 colonies ont été louées à des fins de pollinisation (Institut de la statistique du Québec, 2016). Ainsi, la pollinisation des cultures fruitières et maraîchères représente plus de 20% des revenus des apiculteurs (Boucher et al., 2011).

## 1.2. Régie et cycle de production apicole au Québec

Au Canada, la nouvelle saison apicole débute par la sortie et le déballage des ruches au printemps. Au Québec, plus particulièrement, la sortie des ruches commence vers la fin du mois de mars dans les régions du sud et se poursuit pendant deux à trois semaines dans les régions plus à l'est et au nord de la province

(Boucher et al., 2011). La procédure de sortie des ruches diffère selon le type d'hivernage effectué (intérieur ou extérieur).

L'absence de fleurs au début du printemps implique que la survie et le développement de la colonie dépendent des réserves nutritives de la ruche (Desjardins et al., 2006). Ainsi, dès la sortie des ruches, une première évaluation de leur état est généralement effectuée afin de retirer les colonies mortes et de s'assurer que les réserves de nourriture (miel et pollen) sont suffisantes pour permettre le bon développement des colonies restantes. Un premier nourrissage à l'aide de sirop de sucre (solution de saccharose à 50% p/v) dès la sortie des colonies, de même que l'ajout d'un substitut de pollen, permettent de stimuler l'activité de la ruche et la ponte de la reine (Boucher et al., 2011; Desjardins et al., 2006).

Vers la mi-avril, les premières fleurs (saules et érables) font leur apparition et les abeilles commencent à récolter du pollen frais et un peu de nectar (Desjardins et al., 2006). Lors d'une journée chaude vers la fin d'avril ou le début de mai (environ 16°C), une deuxième évaluation de l'état des colonies permet de rééquilibrer les réserves de nourriture selon la force des colonies. De plus, pour les apiculteurs désirant démarrer de nouvelles ruches (dans le but d'augmenter leur cheptel ou de remplacer les pertes), le début du mois de mai est la période indiquée pour le démarrage des nucléi<sup>1</sup> (Desjardins et al., 2006).

Entre le début et la mi-mai, les ressources florales deviennent suffisamment abondantes pour permettre à la colonie de s'autoalimenter, se développer et commencer à faire des réserves de miel et de pollen (Desjardins et al., 2006). Au Québec, la première miellée commence entre la mi-mai et le début de juin selon les régions (Boucher et al., 2011). Par ailleurs, lorsque les conditions sont favorables, une reine pondra de 1 500 à 2 000 œufs par jour en mai et en juin (Desjardins et al., 2006).

Au début de l'été (mi-juin au début juillet), le développement des ruches devrait être à son maximum, soit 50 000 abeilles et plus par colonie (Desjardins et al., 2006). Durant l'été, les apiculteurs vérifient l'état des colonies à tous les 15 à 20 jours, afin de s'assurer que la reine continue à pondre, de rééquilibrer les ruches saines selon la force des colonies et de remplacer la reine lorsque nécessaire (Desjardins et al., 2006). Généralement, la première miellée se termine vers la mi-juillet et les apiculteurs commencent à retirer les hausses à miel en vue de leur extraction vers la troisième semaine de juillet. Selon les apiculteurs et le volume de miel à récolter, il peut y avoir de deux à trois périodes de récolte et d'extraction du miel : mi-juillet, mi-août et mi-septembre, ou fin juillet et mi-septembre (Desjardins et al., 2006).

---

<sup>1</sup> Nucléus (pluriel nucléi) : petite colonie d'abeilles composée généralement d'une reine, de deux à quatre cadres de couvain et d'un cadre de nourriture (Boucher et al., 2011).

En septembre, les ressources florales et le nectar se font plus rares, les abeilles doivent se préparer pour l'hiver et la reine commence à diminuer sa ponte. Même lorsque la floraison est encore présente, les hausses (boîtes) à miel doivent tout de même être retirées au plus tard à la mi-septembre, afin de préparer les ruches pour la saison froide (Boucher et al., 2011). Suite à la récolte du miel d'automne, les apiculteurs doivent nourrir leurs colonies avec du sirop de sucre afin de leur permettre de traverser la période hivernale dans les meilleures conditions. Vers la fin de septembre à la mi-octobre, les faux bourdons (mâles de l'abeille domestique) sont expulsés de la ruche par les ouvrières qui cherchent à éviter le gaspillage de nourriture (Fukuda & Ohtani, 1977). Ce sont les abeilles nées en août et en septembre qui hiverneront et permettront à la colonie de survivre durant la saison froide. En effet, ces dernières auront une durée de vie beaucoup plus longue que celle des ouvrières nées durant le reste de la saison apicole, elles resteront actives durant tout l'hiver et participeront même, au printemps suivant, à l'élevage du couvain<sup>2</sup> et aux activités de butinage (Desjardins et al., 2006).

C'est à la mi-novembre que les apiculteurs préparent les ruches pour l'hivernage. L'hivernage peut se faire à l'intérieur (dans une chambre d'hivernage) ou à l'extérieur. Les ruches trop faibles à l'automne ne doivent pas hiverner puisqu'elles ne survivraient pas à l'hiver ou, du moins, ne seraient pas productives au printemps suivant (Boucher et al., 2011). Généralement, les ruches à une hausse hivernent à l'intérieur tandis que les ruches fortes à deux hausses sont destinées à l'hivernage extérieur (Boucher et al., 2011). Les ruches hivernées à l'extérieur doivent être isolées adéquatement, en utilisant des matériaux isolants.

La période hivernale dure environ cinq mois et s'étend de la fin de novembre jusqu'en avril. En se blottissant les unes contre les autres pour former une grappe, les abeilles parviennent à survivre à nos hivers rigoureux, mais l'hivernage provoque tout de même la perte d'environ 30% des abeilles adultes d'une colonie (Boucher et al., 2011). Les apiculteurs québécois doivent donc s'attendre à perdre quelques colonies au cours de l'hiver. Les colonies fortes, en santé et bien préparées pour l'hiver auront plus de chance de survivre.

Il est très important pour les apiculteurs de procéder à un suivi serré de l'état sanitaire de leurs colonies, et ce, durant toute la saison apicole (Pernal & Clay, 2015). Il sera ainsi plus facile de planifier les interventions nécessaires au maintien ou à l'amélioration de la santé des colonies. Dès le printemps, des prélèvements d'abeilles à des fins d'analyses en laboratoire permettent d'évaluer la présence de nosémose, de loque et d'acariose (Boucher et al., 2011). De plus, des dépistages fréquents de l'acarien varroa s'avèrent nécessaires afin de détecter la présence de ce parasite dans les ruches et de prendre les mesures nécessaires pour préserver la santé des colonies (voir section 1.4.6).

---

<sup>2</sup> Ensemble des œufs, des larves et des pupes d'abeilles.



## 1.3. Menaces et pertes de colonies

### 1.3.1 Situation sur la perte de colonies d'abeilles

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2016), le nombre total de colonies d'abeilles domestiques à travers le monde était estimé à 83,4 millions en 2014, ce qui représente une augmentation de 69,5% depuis 1961. Bien qu'il soit évident que les stocks mondiaux d'abeilles sont en augmentation depuis les 60 dernières années, plusieurs régions du monde sont aux prises avec des pertes importantes de colonies. En Europe, par exemple, une réduction de 16,2% du nombre total de colonies a été observée entre 1961 et 2014, tandis que les pertes observées en Amérique du Nord pour la même période s'élèvent à 41,3% (FAO, 2016). Toutefois, une tendance inverse est observée au Canada, où le nombre de colonies ne cesse d'augmenter (FAO, 2016; Ferland et al., 2017). Il n'en demeure pas moins que depuis plus d'une décennie, la mortalité hivernale des colonies demeure plus élevée au Québec et au Canada que le seuil de 15% considéré comme étant acceptable par les apiculteurs (Ferland, 2017).

De manière générale, ces pertes de colonies sont attribuables à la mortalité hivernale des abeilles, de même qu'à un phénomène plutôt récent identifié aux États-Unis et appelé syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles (en anglais, « Colony collapse disorder » ou CCD) (Le Conte et al., 2010). En effet, depuis 2006, les apiculteurs sont témoins d'un phénomène inhabituel de mort des colonies caractérisé par la perte rapide d'un grand nombre d'ouvrières, laissant derrière elles la reine et le couvain. Ce syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles se distingue aussi par l'absence d'abeilles mortes dans la colonie affectée (vanEngelsdorp et al., 2009). En outre, plusieurs chercheurs se sont penchés sur la problématique de pertes de colonies observée en Europe et aux États-Unis et certains facteurs ont été identifiés comme causes potentielles du phénomène. Parmi ceux-ci, notons les pathogènes et parasites de l'abeille, l'intensification agricole et l'utilisation massive de pesticides, les conditions météorologiques, le manque de diversité génétique des colonies, les carences nutritionnelles, etc. (Desai & Currie, 2016; Smith et al., 2013; vanEngelsdorp & Meixner, 2010).

### 1.3.2 Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique

Un large éventail de maladies et d'organismes nuisibles peuvent affecter l'abeille domestique et nuire à son développement ou à la productivité des colonies. Le tableau 1 présente un portrait sommaire des pathogènes et parasites les plus problématiques en apiculture, au Québec. Par ailleurs, un certain nombre d'insectes et autres animaux nuisibles peuvent agir en tant que prédateurs ou déprédateurs (animaux qui causent des dégâts matériels à une ruche dans le but de se nourrir). Ces derniers peuvent se nourrir de larves ou d'abeilles adultes, de miel, de pollen, de cire ou simplement profiter de la chaleur de la ruche pour se mettre

à l'abri (Boucher et al., 2011). À titre d'exemples, le petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*) et deux espèces de fausse-teignes (*Galleria mellonella* et *Achroia grisella*) figurent parmi les insectes pouvant causer des dommages non négligeables aux ruches infestées (Pernal & Clay, 2015). De plus, certains mammifères prédateurs, tels que les souris, les rats laveurs, les mouffettes et les ours, peuvent piller les ruches en quête de nourriture et ainsi causer des dégâts considérables aux colonies (Boucher et al., 2011).

**Tableau 1. Maladies de l'abeille domestique fréquemment rencontrées.**

Maladie	Agent biologique responsable	Stades de l'abeille touchés	Description et impact sur la colonie
<b>Maladies bactériennes</b>			
Loque américaine	<i>Paenibacillus larvae</i>	Couvain	Maladie du couvain la plus dévastatrice à l'échelle mondiale <sup>1</sup> . Très contagieuse, peut rapidement causer la perte des colonies d'un rucher <sup>2</sup> .
Loque européenne	<i>Melissococcus pluton</i> <i>Paenibacillus alvei</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Couvain	Maladie contagieuse largement répandue au Québec. Cause généralement peu de dommages <sup>2</sup> .
<b>Mycoses</b>			
Couvain plâtré	<i>Ascophaera apis</i>	Couvain	Généralement peu dommageable. Peut représenter un risque élevé pour les colonies affaiblies. Contamination avec de la nourriture larvaire contaminée <sup>2</sup> .
Nosérose	<i>Nosema apis</i> <i>Nosema ceranae</i>	Adulte	Maladie infectieuse du système digestif de l'abeille. Largement répandue. Contamination par ingestion <sup>2</sup> .
<b>Maladies virales</b>			
Maladie des ailes déformées	Virus des ailes déformées	Tous les stades	Virus de l'abeille domestique le plus répandu dans le monde. Cause des malformations et la mort précoce des adultes nouvellement émergées <sup>1</sup> .
Autres viroses	Virus du couvain sacciforme, virus israélien de la paralysie aiguë, virus de l'abeille du cachemire, etc.	Différents stades	Actuellement, 24 virus de l'abeille ont été identifiés mondialement, dont une dizaine ont été retrouvés en Amérique du Nord <sup>3</sup> .
<b>Acariens parasites</b>			
Varroase	<i>Varroa destructor</i>	Couvain et adulte	Plus important problème sanitaire affectant les abeilles. Maladie parasitaire très contagieuse pouvant causer la perte de la colonie <sup>2</sup> .
Acariose	Acarien des trachées ( <i>Acarapis woodi</i> )	Adulte	Maladie parasitaire contagieuse affectant le système respiratoire des abeilles. Peut entraîner des dommages importants dans les colonies. Se transmet d'une abeille à l'autre, par contact direct <sup>2</sup> .

<sup>1</sup> Pernal & Clay (2015); <sup>2</sup> Boucher et al. (2011); <sup>3</sup> Prevention of honey bee colony losses (2016)

## 1.4. *Varroa destructor*

*Varroa destructor* (Anderson & Trueman) est un acarien ectoparasite de l'abeille domestique. Le genre *Varroa* (Acari : Varroidae) regroupe quatre espèces d'ectoparasites obligatoires qui se nourrissent exclusivement de l'hémolymphe des abeilles sociales du genre *Apis* (Hymenoptera : Apidae) (Anderson & Trueman, 2000). De ces quatre espèces, *V. destructor* est sans aucun doute celle causant le plus de dommages aux colonies d'abeilles à travers le monde (V. Dietemann et al., 2012).

### 1.4.1 Historique et répartition géographique

Avant l'année 2000, *V. destructor* était connu sous le nom de *Varroa jacobsoni* Oudemans, identifié pour la première fois en 1904, en Indonésie (Oudemans, 1904). Il s'agissait au départ d'un parasite de l'abeille asiatique *Apis cerena* Fabricus, indigène de l'Asie. Le changement d'hôte du parasite d'*A. cerena* vers *A. mellifera* aurait eu lieu vers 1957 au Japon, où les deux espèces d'abeilles cohabitaient depuis 1877 (de Guzman et al., 1997). Selon Oldroyd (1999), la construction du chemin de fer transsibérien reliant la Russie à l'Extrême-Orient aurait conduit, au début du 20e siècle, à des exportations d'abeilles domestiques de l'Europe vers l'Indonésie. Le rapprochement d'*A. mellifera* avec l'abeille indigène asiatique *A. cerena* aurait alors permis au parasite *V. jacobsoni* de s'établir sur son nouvel hôte, *A. mellifera*. Les abeilles infestées auraient ensuite été exportées vers leur lieu d'origine, l'Europe, et l'infestation se serait alors rapidement répandue à travers le monde.

*Varroa jacobsoni* a été détecté pour la première fois à l'extérieur de son aire de répartition naturelle en Russie en 1949 (Matheson, 1995). Selon de Guzman et al. (1997), il y aurait eu au moins deux introductions indépendantes du parasite en Amérique. Une première introduction aurait eu lieu au Paraguay (Amérique du Sud) en 1971 via l'importation de reines et de couvain d'abeilles domestiques infestées en provenance du Japon. En Amérique du Nord, un second foyer d'infestation aurait pris naissance au Wisconsin (États-Unis) en 1987 et serait d'origine européenne. En 1989, soit deux années plus tard, le varroa était déjà présent au Canada (Matheson, 1995) et son introduction au Québec a eu lieu au cours des années 90' (Giovenazzo, 2011). À l'heure actuelle, le parasite est présent dans toutes les provinces du Canada à l'exception de l'île de Terre-Neuve (Leboeuf et al., 2016). L'Australie constitue le seul autre territoire terrestre abritant d'importantes quantités d'abeilles domestiques exemptes de varroas (Wilfert et al., 2016).

En 2000, suite à des analyses génomiques, un groupe de chercheurs a découvert qu'il existe en fait deux espèces de varroas distinctes qui affectent le genre *Apis*. *Varroa jacobsoni* causerait donc la varroase chez *A. cerena*, mais ce serait une espèce plus virulente, *V. destructor*, qui parasiterait *A. mellifera* (Anderson & Trueman, 2000). Comparativement aux dommages causés par *V. destructor* chez l'abeille domestique,

l'impact de *V. jacobsoni* sur son hôte naturel est relativement minime (V. Dietemann et al., 2012; Oldroyd, 1999). Cette différence s'explique en partie par le fait que *V. jacobsoni* ne peut se reproduire qu'en présence de couvain de mâles. De son côté, *V. destructor* peut se reproduire autant sur le couvain mâle que sur le couvain d'ouvrières, ce qui lui confère l'avantage d'une période de reproduction intense et prolongée (Oldroyd, 1999).

#### 1.4.2 Caractéristiques morphologiques et cycle de vie

*Varroa destructor* est un acarien d'assez grande taille et peut être vu à l'œil nu. C'est la femelle que l'on observe le plus fréquemment. De couleur brun rougeâtre, le corps de la femelle adulte est plus large que long, soit environ 1,1 mm de long x 1,6 mm de large (Sammataro et al., 2000). Ce dernier est aplati dorsoventralement et est recouvert de nombreuses soies. Ainsi, de par sa morphologie, la femelle est bien adaptée pour se loger entre la nymphe d'abeille et les parois de l'alvéole ainsi que sur le corps de l'abeille adulte (Sammataro et al., 2000). Dans la colonie d'abeilles, les femelles varroa adultes sont souvent observées dans les cellules de couvain ou marchant rapidement à la surface des cadres. On les retrouve également sur les abeilles adultes qui leur servent de moyen de dispersion (phorésie) et d'hôtes temporaires. Ainsi, durant leur phase phorétique, les femelles s'accrochent fermement au corps des abeilles adultes, principalement au niveau de l'abdomen, sous les sclérites abdominaux ou à la jonction du thorax et de l'abdomen (De Jong, Morse, et al., 1982; Rosenkranz et al., 2010). Les mâles, de leur côté, ne sortent jamais des alvéoles. Ils ne se nourrissent pas et leur cycle de vie est court, soit le temps nécessaire pour accomplir leur rôle de géniteur. Les varroas mâles et les immatures (œufs, protonymphes et deutonymphes) sont blanc jaunâtre et les mâles sont plus petits que les femelles.

*Varroa destructor* passe sa vie entière au sein de la colonie d'abeilles, parasitant les abeilles adultes ou les stades immatures. Le cycle de vie du varroa est bien connu et plusieurs auteurs (Boot et al., 1993; De Jong, Morse, et al., 1982; Donze & Guerin, 1994; Ifantidis, 1983; Martin, 1994; Nazzi & Le Conte, 2016; Sammataro et al., 2000) décrivent en détail les étapes de la reproduction et du développement du parasite. Chez le varroa, la reproduction est de type haplodiploïde (les femelles se développent à partir d'œufs fécondés, tandis que les mâles se développent à partir d'œufs non fécondés) et se produit dans les cellules de couvain d'abeilles. *Varroa destructor* préfère le couvain de faux bourdons (mâles), mais peut également se développer dans des cellules d'ouvrières. Ainsi, lorsqu'elle se retrouve dans une colonie d'abeilles qui se reproduit activement, la femelle varroa fécondée quitte l'abeille adulte et entre dans une cellule de couvain un à deux jours avant son operculation (Sammataro et al., 2000). La femelle se cache alors des abeilles ouvrières en immergeant son corps dans les réserves de gelée larvaire qui se trouvent au fond de la cellule. Celle-ci reste cachée jusqu'à ce que la cellule de couvain soit operculée, puis elle s'attache à la larve de l'abeille alors que cette dernière tisse son cocon (Donze & Guerin, 1994; Sammataro et al., 2000). Soixante heures après

l'operculation de la cellule, la femelle pond un premier œuf non fécondé qui se développera en mâle néoténique (pouvant se reproduire en conservant une structure d'immature) qui restera dans la cellule. Les œufs pondus par la suite, par intervalles de 30h, seront fertilisés et se développeront tous en femelles. Puisque la ponte est étalée dans le temps, le succès d'un cycle de reproduction dépend de la durée du cycle de l'abeille. Ainsi, puisque la durée de la période de développement suivant l'operculation est supérieure chez le couvain de faux bourdons (14 à 15 jours) comparativement au couvain d'ouvrières (11 à 12 jours), le nombre de jeunes femelles varroas qui atteignent le stade adulte est supérieur chez ce premier. En effet, lorsque le cycle de reproduction s'effectue sur du couvain de faux bourdon, une femelle fondatrice produira en moyenne 2.2 nouvelles femelles viables (Martin, 1995), tandis qu'elle en produira 1.45 si le cycle se déroule sur du couvain d'ouvrières (Martin, 1994). Bien que cette différence puisse sembler insignifiante, la présence de couvain de mâles dans une colonie d'abeilles joue donc un rôle non négligeable sur la croissance de la population de varroa, surtout lorsque la population initiale du parasite est élevée.

Durant son développement post-embryonnaire, le varroa passe par deux stades, la protonymphe et la deutonymphe, qui comportent chacun une phase mobile et une phase immobile. Les jeunes femelles en développement s'alimentent de l'hémolymph des pupes d'abeilles à partir d'une unique perforation construite et entretenue par la femelle fondatrice à l'aide de ses pièces buccales. Suite à leur maturation sexuelle, c'est-à-dire environ six jours après la ponte des œufs, les femelles s'accouplent avec leur frère ou avec le fils d'une autre femelle fondatrice dans le cas d'une invasion multiple (DeGrandi-Hoffman & Curry, 2004; Ifantidis, 1983). Une fois le cycle de l'abeille complété, la jeune abeille émerge, portant sur son dos les femelles varroas. Les mâles et les nombreuses femelles qui n'atteignent pas la maturité restent dans la cellule et meurent. Suite à leur sortie de la cellule, les femelles matures se déplacent sur une abeille nourrice et restent en phase phorétique entre 2 à 11 jours avant de s'introduire dans de nouvelles cellules pour répéter le cycle (Boot et al., 1993; Martin, 1998). La phase phorétique n'est pas essentielle au processus de reproduction, mais elle est tout de même importante pour permettre la maturation des jeunes femelles varroas et leur déplacement vers les sites de reproduction (Piou et al., 2016). Chaque femelle varroa fécondée peut effectuer de deux à trois cycles de reproduction au cours de sa vie qui dure de deux à trois mois au cours de l'été (et de six à huit mois au cours de l'hiver).

### 1.4.3 Impact de la varroase sur la santé des colonies d'abeilles

*Varroa destructor* représente actuellement la plus grande menace pour l'abeille domestique, à l'échelle mondiale (Nazzi & Le Conte, 2016). La présence du varroa, seule ou en association avec d'autres facteurs biotiques ou abiotiques, est entre autres fortement associée à la mortalité hivernale des colonies d'abeilles (Amdam et al., 2004; Dainat et al., 2012; McMenamin & Genersch, 2015; van der Zee et al., 2015; van

Dooremalen et al., 2012), en plus d'être suspectée de jouer un rôle dans le syndrome d'effondrement des colonies (Kang et al., 2016; Le Conte et al., 2010; Nazzi et al., 2012).

#### 1.4.3.1 Dommages à l'échelle de l'individu

Les dommages causés aux colonies d'abeilles par *V. destructor* sont principalement attribuables aux lésions infligées aux pupes d'ouvrières durant leur développement (Annoscia et al., 2015; De Jong, Morse, et al., 1982; Duay et al., 2003; Rosenkranz et al., 2010). Ces blessures physiques surviennent lorsque les femelles adultes perforent la membrane intersegmentaire des abeilles immatures avec leurs chélicères pointues pour se nourrir. Lors de sa phase de reproduction, plus particulièrement, la femelle varroa ainsi que sa progéniture se nourrissent de l'hémolymphe de la pupa d'abeille, causant ainsi d'importantes carences nutritionnelles à l'abeille en développement et une diminution du poids des pupes (Bowen-Walker & Gunn, 2001; De Jong, De Jong, et al., 1982; Duay et al., 2003). Les abeilles adultes ayant été parasitées durant leur développement présenteront parfois des malformations, auront un poids inférieur, un système immunitaire affaibli et une durée de vie beaucoup plus courte (Annoscia et al., 2015; Annoscia et al., 2012; Bowen-Walker & Gunn, 2001; De Jong, De Jong, et al., 1982; Yang & Cox-Foster, 2007). En effet, le parasitisme par *V. destructor* peut mener à la suppression de l'expression de plusieurs gènes, tant chez l'abeille adulte que chez les stades immatures, dont certains sont impliqués dans la défense immunitaire et la longévité de leur hôte (Koleoglu et al., 2017). Ici, les blessures physiques engendrées par l'alimentation du varroa de même que certains composés bioactifs injectés dans l'hémolymphe des abeilles par la salive du parasite semblent être en cause (Koleoglu et al., 2017).

Par ailleurs, la perte de poids observée chez les abeilles adultes ayant été parasitées durant leur développement résulterait d'une importante perte en eau chez ces dernières (Annoscia et al., 2012). En effet, il semblerait que l'infestation des pupes par le varroa interfère avec le développement de la cuticule de l'abeille, causant une altération des hydrocarbures responsables de sa perméabilité (Annoscia et al., 2012; Salvy et al., 2001). Selon Annoscia et al. (2012), cette altération affecterait la capacité de la cuticule à prévenir les pertes en eau ainsi que la tolérance des abeilles infestées aux stress hydriques, et pourrait aussi altérer la capacité des abeilles à se défendre contre certains agents pathogènes. Par ailleurs, chez les ouvrières destinées à hiverner, les adultes ayant été parasitées au stade nymphal ne développent pas complètement les caractéristiques physiologiques typiquement associées à une longévité supérieure, incluant une accumulation adéquate de vitellogénine et d'hémocytes (Amdam et al., 2004). De plus, la réduction du contenu en protéines et en gras des abeilles infestées par le varroa entrave le fonctionnement de leurs glandes mandibulaires et hypopharyngiennes (Ayoub et al., 2015; Ritter & Akatanakul, 2006) et augmente leur susceptibilité aux pesticides (Le Conte et al., 2010; Ritter & Akatanakul, 2006).

Chez les mâles, l'infestation du couvain par le varroa conduit également à une perte de poids des pupes et des adultes émergents (Duay et al., 2003). Toutefois, le couvain de mâles semble plus résistant aux infestations que le couvain d'ouvrières. En effet, Duay et al. (2003) ont démontré que, même lorsque leur cellule est infestée par 20 femelles varroas et leur progéniture, certains faux bourdons émergent sous forme d'adulte. Par ailleurs, Amiri et al. (2016) ont récemment démontré que les faux bourdons infectés par le virus des ailes déformées, un virus fortement associé à la présence de *V. destructor*, peuvent transmettre le virus via leur sperme lors du processus d'accouplement naturel, ce qui entraîne occasionnellement l'infection des reines. Ainsi, la transmission du virus aux reines lors de l'accouplement peut contribuer considérablement à la défaillance ou à la mort de ces dernières, un facteur souvent associé à la perte des colonies d'abeilles (Pettis et al., 2016; vanEngelsdorp & Meixner, 2010). En outre, le nombre de faux bourdons qui atteignent l'âge de la maturation sexuelle est significativement réduit chez les mâles ayant été parasités lors de leur développement (Collins & Pettis, 2001).

Durant sa phase phorétique, la femelle varroa se nourrit de l'hémolymphe des abeilles adultes, ce qui peut également comporter certains impacts négatifs. Entre autres, les butineuses parasitées par le varroa présentent une diminution de leur capacité d'apprentissage (Kralj et al., 2007; Navajas et al., 2008), des périodes d'absence prolongées à l'extérieur de la ruche, des difficultés à s'orienter et un taux de retour à la colonie inférieur à celui observé chez les butineuses non parasitées (Kralj & Fuchs, 2006). Ces changements de comportement pourraient expliquer, du moins en partie, la perte du grand nombre d'ouvrières observée lors des épisodes d'effondrement des colonies d'abeilles (Kralj & Fuchs, 2006).

Très récemment, une étude effectuée à l'Université du Maryland a démontré que le varroa s'alimente principalement des corps gras de l'abeille plutôt que de son hémolymphe – tel que supposé durant plusieurs années (Ramsey, 2017). Cette nouvelle découverte permettra sans doute de mieux comprendre l'impact du parasite sur son hôte, vu l'importance des corps gras en tant que réserve de nutriments chez les abeilles. Les corps gras jouent également un rôle pour la détoxification des pesticides, la réponse immunitaire et la régulation hormonale chez l'insecte (Ramsey, 2017).

#### *1.4.3.2 Dommages à l'échelle de la colonie*

L'impact du varroa au niveau de la colonie d'abeilles ne correspond pas à une simple addition des effets individuels puisque les sociétés d'insectes eusociaux, d'une part, possèdent une certaine capacité de tamponnage et parce que la colonie constitue un ensemble complexe de mesures comportementales, chimiques et biophysiques de défenses collectivement appelées « immunité sociale » (Wegener et al., 2016). Lorsqu'une infestation par *V. destructor* n'est pas contrôlée, les colonies parasitées développent d'importants symptômes, tels qu'une diminution de leur développement, la présence d'abeilles malnutries ou celle d'abeilles rampantes,

qui sont incapables de voler, ou qui ont les ailes atrophiées (Annoscia et al., 2012; De Jong, 1997). Une récente étude portant sur l'altération du comportement des abeilles ayant été parasitées par *V. destructor* durant leur développement a d'ailleurs démontré que ces dernières sont moins actives dans la colonie: elles prodiguent moins de soins aux larves, effectuent moins de tâches dans la ruche (ventilation, trophallaxie) et ne semblent pas participer à la collecte de nourriture (Annoscia et al., 2015). Ainsi, selon les mêmes auteurs, le manque d'ouvrières dédiées au soutien et à la subsistance du couvain pourrait conduire, dans un court laps de temps, à un dysfonctionnement de la colonie entière.

Une colonie fortement infestée par le varroa produira également significativement moins de miel (Emsen et al., 2014). Par ailleurs, bien qu'une nutrition optimisée puisse favoriser la croissance des colonies et leurs réponses immunitaires aux virus, le parasitisme par le varroa risque de nuire à tous les avantages qu'une bonne nutrition pourrait offrir (DeGrandi-Hoffman & Chen, 2015). En effet, le parasitisme par le varroa engendre, chez l'abeille, une diminution du métabolisme des protéines, l'inhibition de certains gènes d'immunité et des niveaux d'infections virales accrus qui ne peuvent pas être contrebalancés par la consommation de pollen (DeGrandi-Hoffman & Chen, 2015). Il semble donc qu'il existe des limites quant aux avantages que procure le régime alimentaire sur la fonction immunitaire chez les abeilles parasitées par le varroa. En outre, les conditions climatiques ou les réserves insuffisantes de pollen et de nectar peuvent augmenter le processus de dépérissement des colonies (Ritter & Akwatanakul, 2006). Ainsi, le plus souvent, une colonie non traitée s'effondrera après seulement six à 24 mois d'infestation par *V. destructor* (Le Conte et al., 2010). Les colonies décimées par le varroa sont souvent retrouvées avec quelques rares abeilles et leur reine, les autres ouvrières ayant succombé ou ayant dérivé vers les colonies voisines (Ritter & Akwatanakul, 2006). Dans ce dernier cas, les populations de varroas augmenteront avant de tuer les colonies nouvellement parasitées (Rosenkranz et al., 2010).

#### **1.4.3.3 Interactions entre le varroa et les virus de l'abeille**

L'acarien varroa est un important vecteur de virus, dont plusieurs sont associés à un effondrement des colonies d'abeilles (de Miranda et al., 2010; Genersch & Aubert, 2010; Nazzi & Le Conte, 2016). La transmission de virus du varroa à l'abeille, via l'alimentation répétée du parasite à partir de l'hémolymphe de son hôte, est bien documentée (de Miranda et al., 2010; McMenamin & Genersch, 2015; Rosenkranz et al., 2010). En fait, la plupart des virus transmis par le varroa étaient présents dans les populations d'abeilles avant l'arrivée du parasite, mais les infections demeuraient le plus souvent bénignes ou asymptomatiques (de Miranda et al., 2010; Nazzi et al., 2012). En effet, l'exosquelette des abeilles les protège normalement de nombreuses infections virales. Cependant, en pénétrant cette barrière naturelle, le varroa favorise la transmission des virus ou la multiplication de ces derniers par sa salive. C'est ce qui se produit, notamment, dans le cas du virus de la paralysie aiguë (ABPV), du virus israélien de la paralysie aiguë (IAPV) et du virus du cachemire (KBV), dont la



présence est fortement reliée à celle du varroa (de Miranda et al., 2010). Bien qu'ils soient, en temps normal, présents à de faibles concentrations dans la colonie et qu'ils provoquent des infections silencieuses, ces virus sont extrêmement virulents lorsqu'ils sont injectés directement dans l'hémolymphe des abeilles, ce qui explique leur implication dans les pertes de colonies induites par le varroa (de Miranda et al., 2010). Outre ces trois virus de la famille des Dicistroviridae, le virus de la cellule royale noire (BQCV; Dicistroviridae), le virus des ailes déformées (DWV; Iflaviridae), le virus du couvain sacciforme (SBV; Picornaviridae) et le virus des taches en anneaux du tabac (TRSV; Secoviridae) sont également associés à différents degrés avec *V. destructor* (Chen & Siede, 2007; McMenamin & Genersch, 2015). Par ailleurs, les pupes d'abeilles semblent plus susceptibles aux infections virales que les abeilles adultes puisque leur système immunitaire se trouve affaibli, lors de leur développement, par la présence du varroa (Koleoglu et al., 2017).

En raison de son association étroite avec la mortalité des colonies induite par le varroa, le virus des ailes déformées (en anglais, « Deformed wing virus » ou DWV) est l'un des virus de l'abeille les plus étudiés. Il est maintenant bien connu que *V. destructor* peut déclencher la réplication du DWV qui, pourtant, se retrouve habituellement à des niveaux non létaux chez l'abeille (De Miranda & Genersch, 2010; Nazzi et al., 2012; Yang & Cox-Foster, 2007). Le DWV est un virus à ARN simple brin pouvant être transmis horizontalement (voie fécale, orale ou cannibalisme) ou verticalement (des parents à leur descendance) et causant des infections silencieuses chez l'abeille (De Miranda & Genersch, 2010). En effet, de manière générale, ce virus serait très répandu en Europe, avec une prévalence approchant 100% durant l'été (De Miranda & Genersch, 2010; Nazzi et al., 2012). Selon Nazzi et al. (2012), les blessures infligées à l'abeille par *V. destructor* déstabilisent la dynamique interne du DWV, transformant le virus initialement cryptique en un virus meurtrier qui se réplique rapidement. En effet, selon les auteurs, cette déstabilisation résulterait d'un syndrome d'immunosuppression chez l'abeille. Ainsi, en affectant les défenses antivirales des abeilles, le varroa favoriserait la réplication du DWV et conduirait à l'effondrement subséquent des colonies.

Lorsque l'infection par le DWV est suffisamment importante et devient symptomatique, des déformations physiques invalidantes apparaissent chez les abeilles infectées, dont une déformation des ailes, un abdomen raccourci et gonflé et une taille réduite (De Miranda & Genersch, 2010). Les abeilles présentant des ailes déformées ont généralement une durée de vie limitée à un ou deux jours (De Miranda & Genersch, 2010). La mort des pupes infectées peut également survenir. Selon Annoscia et al. (2012), l'expression symptomatique de l'infection virale à elle seule semble fortement associée à cette réduction de la longévité des abeilles. Une des théories avancées par les auteurs est que les abeilles handicapées par le DWV peuvent difficilement se nourrir due à leur mobilité réduite. De plus, le comportement d'agressivité exhibé par les abeilles non infectées envers leurs congénères handicapées pourrait désavantager significativement la survie des abeilles affectées par le virus.

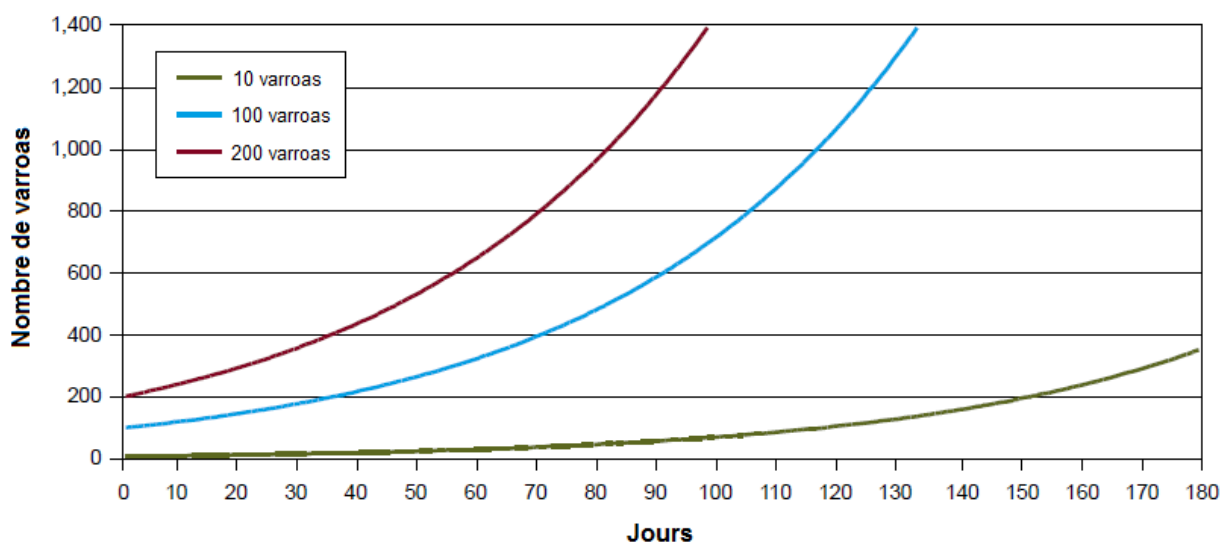
Le plus souvent, l'effondrement des colonies infestées par le varroa se produit à la fin de la saison active, en raison d'une augmentation soudaine de la mortalité des abeilles causée par une quantité létale de copies du génome DWV résultant de la réplication virale déclenchée par le parasite (Nazzi et al., 2012; Wegener et al., 2016). De plus, l'association entre *V. destructor* et le DWV serait aussi responsable de la durée de vie réduite des abeilles d'hiver, suggérant leur implication dans les importantes pertes hivernales de colonies d'abeilles observées dans plusieurs régions tempérées (Dainat et al., 2012). Par ailleurs, un nouveau génotype émergent du DWV, appelé DWV-B ou « *Varroa destructor virus* » (VDV-1) s'avère encore plus virulent que le génotype DWV-A préalablement établi et peut représenter une menace particulièrement importante pour les populations d'abeilles domestiques (McMahon et al., 2016). En effet, selon les auteurs, les colonies infectées par le DWV-B s'effondrent plus rapidement que celles infectées par le DWV-A. La perte prématurée des abeilles ouvrières infectées par le virus, ainsi que l'énergie gaspillée pour l'élevage de ces abeilles entraînent un impact négatif flagrant sur la valeur adaptative « fitness » des colonies lorsque trop d'abeilles non viables sont produites (De Miranda & Genersch, 2010). Ainsi, selon certains auteurs, l'étude des effets de l'infestation par le varroa en l'absence d'infection virale et vice-versa est probablement de valeur limitée sous un point de vue pratique, compte tenu de la forte interaction existante entre *V. destructor* et le virus DWV (Annoscia et al., 2015; Annoscia et al., 2012).

#### 1.4.4 Dynamique des populations de *Varroa destructor*

Une bonne compréhension de la dynamique des populations de *V. destructor* au sein des colonies d'abeilles est essentielle au développement de nouvelles méthodes de lutte contre le parasite et à l'application des stratégies recommandées. Il faut d'abord garder en tête que les populations de varroas augmentent au fil de la saison dès que le couvain est présent dans la colonie, permettant ainsi aux femelles fondatrices de se reproduire. Ainsi, suite à l'infestation d'une nouvelle colonie par le varroa, ce dernier peut croître jusqu'à atteindre une population démesurée en quelques années seulement (Rosenkranz et al., 2010). La croissance de la population de varroas est influencée à la fois par les caractéristiques du parasite, telles que sa capacité de reproduction et sa longévité, ainsi que par celles de son hôte, incluant la taille de la colonie d'abeilles, la présence de couvain (ouvrières ou mâles), l'essaimage et le comportement hygiénique (Rosenkranz et al., 2010). D'autres facteurs, tels que la période de l'année, le climat et la présence de pathogènes de l'abeille (ex. virus) influencent également le développement des acariens dans la colonie.

Généralement, les populations de varroas augmentent tout au long du printemps et de l'été, à mesure que la taille des colonies d'abeilles augmente (Figure 1). Dans les régions tempérées, les dégâts au niveau de la colonie apparaissent principalement durant l'automne et l'hiver, lorsque la population d'hôtes diminue et que

le taux relatif de parasitisme augmente, endommageant la santé des abeilles qui s'apprêtent à hiverner (Amdam et al., 2004).

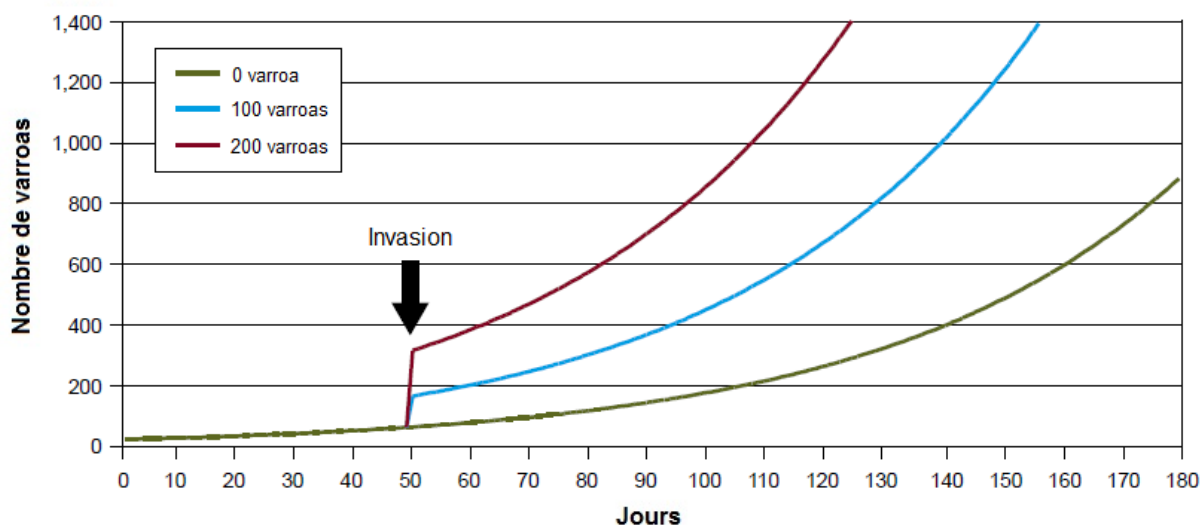


**Figure 1. Modélisation de l'effet de différents niveaux d'infestation par *V. destructor* en début de saison sur la croissance subséquente de la population.** Une différence de quelques dizaines d'acariens en début de saison peut avoir des conséquences considérables sur la population totale de parasites en fin de saison. Ainsi, une population initiale de 10 acariens ou moins maintiendra la population sous le seuil critique d'infestation (1 000 à 3 000 acariens) durant toute la saison. Par contre, une colonie plus fortement infestée en début de saison (100 à 200 varroas) verra sa population augmenter à des niveaux critiques pour la survie de la colonie d'abeilles. Figure adaptée de The National Bee Unit (2017).

Plusieurs modèles mathématiques ont été développés dans le but d'estimer et de comprendre les variations des populations de *V. destructor* au fil des saisons. Par exemple, Martin (1998) suggère un modèle qui prédit une augmentation annuelle de la population de varroas par un facteur de 12 dans une colonie possédant du couvain durant 128 jours (régions tempérées). Ceci correspond également à une augmentation journalière de 2,1%. Selon ce modèle, environ 65% de la population de varroas se retrouve à l'intérieur des cellules de couvain operculées, lorsque le couvain est présent. Par ailleurs, le modèle prédit un ratio de varroas morts ou vivants très variable entre les périodes de présence (moins de mortalité) ou d'absence (plus de mortalité) de couvain. Un autre modèle, celui de DeGrandi-Hoffman & Curry (2004), suggère que l'application d'acaricides à la fin de l'été procure les meilleures chances de survie pour les colonies fortement infestées. Ce même modèle prédit également que les colonies fortement infestées par le varroa au printemps et traitées avec un acaricide retrouveront à l'automne des niveaux similaires à ceux des populations non traitées. Ceci serait attribuable au fait que dans les colonies traitées, les cellules de couvain de mâle sont infestées par un moins grand nombre de varroas, ce qui augmente le succès de reproduction du parasite et donc le taux de croissance

de sa population. Par ailleurs, les auteurs insistent sur l'importance d'adapter les seuils d'intervention selon la région géographique, en tenant compte de la longueur de la période de disponibilité du couvain dans la colonie.

L'apport de parasites exogènes (provenant d'une autre colonie) peut également contribuer à l'augmentation naturelle des populations de varroas (DeGrandi-Hoffman et al., 2016; Figure 2). En effet, la transmission de parasites entre les colonies peut avoir lieu lorsque les ouvrières ou les faux-bourçons entrent dans les colonies voisines ou lorsque les butineuses des colonies plus fortes procèdent au pillage des colonies plus faibles (Rosenkranz et al., 2010). Entre autres, la désorientation des abeilles résultant de leur parasitisme par *V. destructor* peut mener à la dérive des butineuses vers d'autres colonies (Kralj & Fuchs, 2006). Certaines colonies « perdent » donc des varroas, tandis que d'autres en « reçoivent ». D'ailleurs, considérant le fait que les colonies plus faibles sont souvent fortement infestées par *V. destructor*, le pillage intense observé durant les périodes de faible disponibilité en nectar risque d'augmenter largement l'infestation chez les colonies plus fortes (Rosenkranz et al., 2010). Ces nouvelles invasions sont d'autant plus favorisées par des densités élevées de ruches situées dans une même zone, l'introduction de colonies parasitées ou encore la présence de ruches non traitées situées dans un rayon de 1.5 km (DeGrandi-Hoffman et al., 2016; Frey & Rosenkranz, 2014; Frey et al., 2011). Ainsi, la croissance rapide des populations de varroas durant l'automne résulterait en grande partie de la migration des varroas entre les colonies plutôt que de la simple reproduction du parasite (DeGrandi-Hoffman et al., 2016).



**Figure 2. Modélisation de l'effet de l'apport de nouveaux varroas sur l'évolution du nombre de parasites au sein d'une colonie d'abeilles.** Lorsqu'une colonie est initialement peu parasitée et en absence d'invasion par des varroas exogènes, la population de varroas sera maintenue sous le seuil critique d'infestation (1 000 à 3 000 varroas). Par contre, l'invasion d'une colonie par de nouveaux acariens peut conduire à des niveaux d'infestation suffisamment élevés pour menacer la survie de cette colonie (selon le nombre d'acariens exogènes introduits). Figure adaptée de The National Bee Unit (2017).

Ces connaissances concernant la dynamique des populations de varroas mettent en évidence l'importance d'effectuer des dépistages fréquents dans l'optique de synchroniser l'application des traitements antiparasitaires avec l'évolution de la densité de parasites au fil des saisons. Ainsi, suite au dépistage et à l'évaluation des densités de population de varroas dans leurs colonies, les apiculteurs sont mieux outillés pour cibler la stratégie de lutte la plus favorable au maintien ou à l'amélioration de l'état de leur cheptel. Les méthodes de dépistage du varroa sont décrites plus bas (section 1.4.6).

#### 1.4.5 Lutte intégrée contre la varroase

Il est maintenant largement reconnu que la lutte intégrée contre les ravageurs est la meilleure approche pour lutter contre la varroase en apiculture. Cette approche mise sur l'intégration d'un ensemble de méthodes proactives, non chimiques et chimiques, qui offre aux apiculteurs la meilleure stratégie pour contrôler le parasite et limiter les dommages aux colonies (Delaplane et al., 2005; The Honey Bee Health Coalition, 2016). Entre autres, ces tactiques visent à contrôler les densités de varroas avant qu'elles ne menacent la productivité et la survie des colonies, plutôt que de répondre après que les dégâts aient eu lieu.

Une stratégie de lutte intégrée contre le varroa intègre donc les aspects suivants : 1) une surveillance fréquente et rigoureuse des populations de varroas afin de détecter les colonies nécessitant un contrôle et d'évaluer l'efficacité des traitements utilisés; 2) l'utilisation de pratiques culturales et physiques dans le but de freiner l'accroissement des populations de varroas; et 3) une rotation des produits chimiques utilisés qui tient compte de la dynamique des populations des acariens et des abeilles et qui minimise le développement de résistance des varroas aux acaricides chimiques (The Honey Bee Health Coalition, 2016).

#### 1.4.6 Surveillance et dépistage du varroa

Le dépistage du varroa permet aux apiculteurs d'estimer la population d'acariens parasitant une colonie en vue d'appliquer la stratégie de lutte la mieux adaptée à leur situation. Il s'agit d'une étape essentielle au contrôle antiparasitaire en apiculture qui permet, notamment, de connaître le niveau de parasitisme dans une colonie avant et après un traitement. Ainsi, une surveillance précise et une bonne connaissance des niveaux d'infestation dans un cheptel apicole sont à la base d'une stratégie adéquate de lutte intégrée contre le parasite.

Généralement, le dépistage du varroa devrait être effectué au minimum à quatre reprises au cours de l'année (The Honey Bee Health Coalition, 2016). Au Québec, un calendrier de contrôle de la varroase indique les périodes de dépistage et les niveaux d'intervention recommandés (Figure 3).

Période de dépistage	<b>PRINTEMPS</b> À la sortie de l'hivernage et au moins 2 semaines avant le premier pissenlit	<b>ÉTÉ</b> Fin juillet – début août	<b>FIN DE SAISON<sup>3</sup></b> Fin août – début septembre (et durant le traitement)	<b>NOVEMBRE</b>	
Durée minimale du dépistage	2 JOURS	2 JOURS	2 JOURS	Aucun dépistage	
CHUTE NATURELLE DURANT LE DÉPISTAGE (Nombre de varroas par jour)	Plus de 25 varroas	<b>TRAITEMENT COMPLET IMMÉDIAT</b> (Enlever les hausses à miel et effectuer le traitement conformément à celui qui est prévu en fin de saison)	<b>TRAITEMENT À EFFECTUER AU PLUS TARD AU MILIEU DE SEPTEMBRE<sup>4</sup></b>	AU BESOIN : <b>TRAITEMENT COMPLÉMENTAIRE À L'AIDE DE L'ACIDE OXALIQUE (EN L'ABSENCE DE COUVAIN)</b>	
	De 10 à 25 varroas	<b>TRAITEMENT</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide formique à 65 % (De 2 à 6 utilisations selon l'ampleur de l'infestation)</li> <li>• Acide formique à 46,7 % (MAQS<sup>1</sup>)</li> <li>• Thymol (Thymovar®)</li> <li>• Autres méthodes de lutte intégrée<sup>2</sup></li> </ul> Si l'infestation est grave, les pesticides de synthèse sont un moyen à envisager (amitraze, fluvalinate, coumaphos)			<b>TRAITEMENT D'APPOINT IMMÉDIAT</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide formique à 65 % (Une ou plusieurs utilisations selon l'ampleur de l'infestation, après le retrait des hausses à miel)</li> <li>• Acide formique à 46,7 % (MAQS<sup>1</sup>)</li> </ul>
	De 1 à 10 varroas	<b>AUCUN TRAITEMENT</b>	<b>PRÉVOIR UN TRAITEMENT EN FIN DE SAISON</b>		<b>TRAITEMENT NON ESSENTIEL</b>
	Moins de 1 varroa				

**La ruche est en danger : intervention nécessaire**
 **Intervention préventive**
 **Situation maîtrisée**

**Figure 3. Calendrier de contrôle de la varroase conçu pour être utilisé par les apiculteurs du Québec comme aide-mémoire durant toute la saison apicole.** Les niveaux d'intervention sont déterminés par la chute naturelle quotidienne des varroas (nombre de varroas/jour; voir tableau 2 pour plus de détails). Tiré de Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (2014).

Parmi les méthodes de dépistage décrites dans la littérature, la méthode du lavage à l'alcool et celle du sucre en poudre (sucre à glacer) sont celles qui fournissent les estimations de populations de varroas les plus fiables selon The Honey Bee Health Coalition (2016). Ces deux méthodes consistent à retirer les varroas phorétiques du corps des abeilles adultes et à compter les acariens afin d'établir un pourcentage d'infestation (nombre de varroas/100 abeilles). La principale différence entre les deux méthodes est que le sucre en poudre n'est pas létal pour les abeilles, ce qui implique que ces dernières peuvent être retournées à la ruche après le dépistage. Au contraire, l'utilisation de l'alcool implique que les abeilles échantillonnées seront sacrifiées.

**Tableau 2. Description sommaire de quelques méthodes de dépistage de la varroase les plus souvent utilisées.** Voir Dieteman et al. (2013) pour plus de détails concernant la méthodologie.

### **LAVAGE À L'ALCOOL**

Prélever ½ tasse d'abeilles (env. 300) de la chambre à couvain et les placer dans un bocal contenant de l'alcool éthylique ou isopropylique à 70%. Une fois le bocal fermé, secouer pendant deux minutes. Verser le tout dans un tamis placé au-dessus d'un bac de lavage blanc ou d'un tissu pâle (filtre à miel). Compter les abeilles mortes et les varroas pour établir le pourcentage d'infestation (varroas/100 abeilles).

**Avantages** : peu coûteux, précis, se fait en une seule visite.

**Désavantages** : nécessite l'ouverture de la ruche et la mort de quelques centaines d'abeilles.

### **SUCRE EN POUDRE**

Prélever ½ tasse d'abeilles (env. 300) de la chambre à couvain. Placer les abeilles dans un bocal et le fermer à l'aide d'un couvercle muni d'un tamis grillagé. Ajouter 1 à 2 cuillères à table de sucre en poudre. Remuer vigoureusement durant au moins une minute afin de recouvrir les abeilles de sucre et de déloger les varroas. Laisser le pot reposer durant 3 à 5 minutes.

Renverser le pot au-dessus d'un carton blanc et remuer comme une salière, jusqu'à ce que les varroas cessent de tomber. Compter les varroas tombés. Ajouter une autre cuillère à table de sucre en poudre dans le bocal et répéter les étapes précédentes pour une deuxième fois. Établir le pourcentage d'infestation (varroas tombés/100 abeilles). Les abeilles pleines de sucre peuvent être retournées à la ruche.

**Avantages** : simple, rapide, se fait en une seule visite, ne tue pas les abeilles.

**Désavantages** : nécessite l'ouverture de la ruche, nécessite plus de temps que le lavage à l'alcool, le compte doit être fait sur place.

### **CHUTE NATURELLE DU VARROA (CARTONS COLLANTS)**

Placer un carton collant sur le plancher de la ruche et couvrir d'un écran grillagé (8 mailles au pouce) ou placer le carton directement dans le plateau grillagé anti varroa, si présent. Laisser le carton collant en place pendant trois à cinq jours. Compter le nombre de varroas sur le carton collant et diviser par le nombre de jours durant lesquels le carton est resté en place afin d'établir un taux moyen de varroas tombés par période de 24 heures.

**Avantages** : simple, ne nécessite pas l'ouverture des ruches.

**Désavantages** : dispendieux, nécessite deux visites au rucher, ne permet pas de calculer le pourcentage d'infestation.

Au Québec, contrairement aux autres provinces canadiennes (Alberta, Saskatchewan, Manitoba, Ontario), les seuils d'intervention en cas d'infestation par le varroa sont établis uniquement en fonction de la chute naturelle d'acariens sur cartons collants et aucun seuil d'infestation n'a été établi pour la méthode du lavage à l'alcool (Eccles et al., 2016). Ces seuils économiques d'intervention ont été établis à partir des résultats d'une étude québécoise (Giovenazzo, 2011) ayant d'abord démontré que le dépistage par chute naturelle du varroa est la méthode la plus précise pour estimer la population de varroas dans les colonies. Ainsi, selon les normes québécoises, un traitement devrait être appliqué si le nombre de varroas par carton collant est supérieur ou égal à un acarien par jour, au printemps et à l'automne. Durant l'été, un traitement d'appoint est recommandé si la chute quotidienne de varroas se situe entre 10 et 25 acariens et ce traitement devient nécessaire si la chute quotidienne est supérieure ou égale à 25 acariens (Boucher et al., 2011). Dans les autres provinces canadiennes, un traitement est généralement recommandé lorsque le taux d'infestation est équivalent ou supérieur à 3% à l'automne, tandis qu'au printemps, le seuil d'intervention varie de 1 à 3% selon la province (Eccles et al., 2016).

Chez les apiculteurs du Québec, le dépistage de la varroase se fait donc principalement par la méthode de chute naturelle des varroas et, dans une moindre mesure, par la méthode du lavage à l'alcool (Ferland, 2017). D'autres méthodes de dépistages sont parfois utilisées par les apiculteurs, mais ces dernières s'avèrent souvent moins efficaces, moins précises ou moins constantes (Dietemann et al., 2013; Lee et al., 2010; Macedo et al., 2002). Parmi celles-ci, notons la méthode du roulement à l'éther, qui ne permet de détecter que 50 à 60% des varroas présents et l'examen du couvain de faux bourdons, dont il est difficile d'interpréter les résultats sous forme de pourcentage d'infestation (The Honey Bee Health Coalition, 2016).

#### 1.4.7 Méthodes de contrôle et options de traitement

Aussitôt que le dépistage indique un niveau de varroase nécessitant une intervention dans une colonie d'un rucher, le traitement devrait être effectué rapidement puisque tout délai augmente les risques de dommages à la colonie et les risques de dispersion du varroa dans les colonies avoisinantes. Par ailleurs, bien que les densités de varroas puissent varier d'une colonie à l'autre, toutes les colonies d'un même rucher devraient être traitées en même temps et avec la même méthode de contrôle, qu'elle soit chimique ou non (The Honey Bee Health Coalition, 2016). Cette recommandation vise à éviter la dérive du parasite à partir des colonies non traitées vers les colonies traitées (Frey et al., 2011).

Le choix d'une méthode de contrôle contre le varroa dépend de plusieurs facteurs, dont la période de l'année, la présence de couvain ou de hausses à miel, la température, la régie de production (conventionnelle ou biologique), les produits utilisés lors des années subséquentes, etc.



#### 1.4.7.1 Lutte chimique

Parmi les produits chimiques homologués au Canada pour lutter contre la varroase figurent les acaricides de synthèse (amitraze, tau-fluvalinate, coumaphos et fluméthrine), les acides organiques (acide formique et acide oxalique) et une huile essentielle (thymol). Certains extraits de plantes (Anjum et al., 2015; Gonzalez-Gomez et al., 2012; Razavi et al., 2015) ainsi que d'autres acides organiques (DeGrandi-Hoffman et al., 2014; Rademacher et al., 2015) et huiles essentielles (Romo-Chacon et al., 2016; Umpierrez et al., 2012; Umpierrez et al., 2011) ont également été testés et démontrent une efficacité variable contre l'acarien varroa, des effets parfois néfastes pour la santé des abeilles et des humains, ou un nombre insuffisant de données scientifiques nécessaires à une utilisation sécuritaire. Par ailleurs, au Canada, la Loi sur les produits antiparasitaires interdit toute utilisation d'acaricides non homologués.

#### *Acaricides de synthèse*

Les agents chimiques de synthèse sont commercialisés sous forme de bandes de plastique imprégnées d'acaricide placées dans les colonies au printemps ou à l'automne, en absence de miellée. Lorsqu'ils sont utilisés de façon adéquate, en respectant les lignes directrices d'une stratégie de lutte intégrée contre la varroase, les acaricides de synthèses s'avèrent des plus efficaces et, en absence de résistance, leur utilisation permet généralement d'éliminer de 85 à 99% de la population de varroas dans une colonie (The Honey Bee Health Coalition, 2016).

Au Canada, quatre produits sont offerts par l'industrie pharmaceutique : Apivar® (amitraze; formamidine), Apistan® (tau-fluvalinate; pyrétrinoïde), CheckMite+® (coumaphos; organophosphate) et Bayvarol® (fluméthrine; pyréthroïde). L'utilisation de ces produits comporte toutefois plusieurs inconvénients, tels qu'une toxicité variable pour les abeilles (Dahlgren et al., 2012; Johnson, 2015), un accroissement de la mortalité des jeunes larves d'ouvrières (Berry et al., 2013; Zhu et al., 2014), une diminution de l'efficacité de reproduction des reines (Rangel & Tarpy, 2015), une accumulation de résidus chimiques dans les produits de la ruche (Boi et al., 2016; Lambert et al., 2013; Medici et al., 2015), des interactions avec d'autres pesticides pouvant compromettre la santé de la colonie (Gregorc, 2012; Johnson et al., 2013) et le développement de plus en plus fréquent de résistance aux produits utilisés (Kamler et al., 2016).

En effet, la résistance de *V. destructor* au fluvalinate, au coumaphos et à l'amitraze a été grandement documenté au cours des 20 dernières années, et ce, dans presque toutes les régions du monde, dont l'Europe (Kamler et al., 2016; Milani, 1999; Thompson et al., 2003), l'Amérique du Nord (Elzen et al., 1999; Elzen et al., 2004) et l'Amérique du Sud (Maggi et al., 2011). Vers la fin des années 1980 et le début des années 1990, l'utilisation de fluvalinate présentait une efficacité de près de 100% (Cabras et al., 1997). Toutefois, la forte pression de sélection sur les populations de varroas résultant de l'utilisation répandue de cet acaricide a

rapidement mené à une diminution de son efficacité (Milani, 1999). Les apiculteurs se sont alors tournés vers l'utilisation de coumaphos et d'amitraze (Elzen et al., 2000), mais le développement de résistance du varroa à ces acaricides a vite été répertorié (Elzen et al., 2000; Maggi et al., 2009; Maggi et al., 2011). Ainsi, avant d'utiliser ces acaricides de synthèse en apiculture, il est fortement recommandé de procéder au test de Pettis (Pettis et al., 1998) afin d'évaluer la résistance des varroas aux produits en question. Il est possible de prévenir l'apparition de résistance des acariens aux acaricides synthétiques en respectant les modalités d'utilisation fournies sur l'étiquette de chaque produit, en diversifiant les produits utilisés et en préconisant une stratégie de lutte intégrée contre la varroase (Eccles et al., 2016).

### *Acides organiques et huiles essentielles*

Lorsqu'ils sont utilisés dans une optique de lutte antiparasitaire contre le varroa, les pesticides organiques (acides organiques et huiles essentielles) possèdent une efficacité moindre que les acaricides de synthèse (The Honey Bee Health Coalition, 2016). Toutefois, leur intégration dans une stratégie de lutte intégrée procure une alternative dont l'efficacité à contrôler les populations de varroas a été prouvée (Al Toufailia et al., 2015; Delaplane et al., 2005; Leza et al., 2015; Vandervalk et al., 2014).

L'acide formique peut être utilisé sous différentes formes, soit à une concentration de 65% (p/p) pour la fumigation des colonies (méthodes « MiteWipe » ou « Flash ») ou sous forme de bandelettes commerciales MAQS® à 46,7% (p/p). L'acide formique à 65% peut être utilisé au printemps et à l'automne, tandis que les bandelettes MAQS® sont homologuées pour être utilisées également durant la miellée (été). Cet acide organique tue les acariens en inhibant leur respiration mitochondriale (Johnson, 2015). D'ailleurs, l'acide formique est le seul acaricide organique qui a la capacité de tuer les acariens se trouvant à l'intérieur des cellules de couvain (Fries, 1991). Son utilisation requiert toutefois le respect de certaines conditions, dont une température diurne se situant entre 10 et 26°C, des ruches fortes contenant au moins six cadres d'abeilles et, dans le cas de l'acide formique à 65%, l'absence de hausses à miel ainsi qu'une période minimale de deux semaines entre la fin du traitement et la récolte du miel (Boucher et al., 2011; Eccles et al., 2016).

Le thymol procure une efficacité comparable à celle de l'acide formique. Il s'agit d'un monoterpénoïde volatile naturellement présent dans le thym (*Thymus vulgaris*). Le thymol agit sur le système nerveux du varroa en interagissant avec les récepteurs GABA impliqués dans la neurotransmission chez les animaux (Johnson, 2015). Au Canada, cette huile essentielle est disponible commercialement sous le nom de Thymovar® pour lequel deux traitements consécutifs sont recommandés en présence des conditions climatiques appropriées (température minimale de 15°C), sans quoi le premier traitement d'automne au thymol doit être suivi d'un traitement complémentaire à l'acide oxalique en novembre (Boucher et al., 2011).

Finalement, au Québec, l'acide oxalique peut être utilisé comme traitement complémentaire de fin de saison (novembre), suite à un traitement d'automne à l'acide formique ou au thymol (Boucher et al., 2011). L'acide oxalique tue uniquement les varroas phorétiques se trouvant sur le corps des abeilles adultes et non ceux se trouvant dans les cellules operculées. C'est la raison pour laquelle son application devrait être limitée aux colonies exemptes de couvain (Al Toufailia et al., 2015). Le mécanisme de toxicité de l'acide oxalique contre les arthropodes n'est pas encore bien compris (Johnson, 2015). Toutefois, nous savons que dans les colonies traitées, des cristaux d'acide oxalique apparaissent sur la cuticule des abeilles, ce qui stimule leur comportement d'épouillage et le retrait des varroas (Schneider et al., 2012). L'acide oxalique peut être utilisé sous forme de solution (mêlé avec du sirop de sucre) appliquée au goutte-à-goutte dans les colonies ou par sublimation. Dans certaines situations (colonies trop faibles, mauvaises conditions d'hivernage, etc.), l'application d'acide oxalique au goutte-à-goutte peut causer la mort des abeilles ou la perte de colonies durant l'hivernage (Boucher et al., 2011). De plus, les travailleurs doivent prendre les précautions nécessaires pour ne pas être exposés aux vapeurs d'acide oxalique qui peuvent être hautement toxiques pour l'humain (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, 2010).

À l'heure actuelle, aucune résistance aux acaricides organiques n'a été répertoriée chez les populations de varroas (Maggi et al., 2017; The Honey Bee Health Coalition, 2016), mais leur utilisation présente tout de même plusieurs désavantages. Par exemple, l'acide formique peut, selon les conditions, induire la mortalité des larves, des ouvrières et des reines (Giovenazzo & Dubreuil, 2011; Underwood & Currie, 2003) et réduire la taille et la productivité de la colonie traitée (Giovenazzo & Dubreuil, 2011). D'un autre côté, bien que les abeilles évitent généralement de consommer l'acide oxalique, son ingestion peut conduire à la mort des cellules du système digestif de l'abeille (Gregorc & Smodis Skerl, 2007) et réduire l'activité et la longévité des ouvrières (Schneider et al., 2012). Le traitement au thymol, quant à lui, peut causer une contamination du miel et de la cire d'abeille (Bonvehi et al., 2016; Floris et al., 2004), une altération du comportement phototactique des ouvrières (Alayrangues et al., 2016; Carayon et al., 2014), une diminution de la production de couvain (Vandervalk et al., 2014) et une réduction de la transcription des gènes codants pour la vitellogénine (Charpentier et al., 2014). Par ailleurs, ces trois acaricides organiques présentent le désavantage d'être grandement dépendants des conditions environnementales (Al Naggat et al., 2015), ce qui rend leur utilisation plus complexe et moins attrayante pour certains apiculteurs.

#### *1.4.7.2 Amélioration génétique et techniques d'élevage*

Outre l'utilisation d'acaricides chimiques, il existe certaines stratégies d'amélioration génétique et techniques d'élevage qui, lorsqu'elles sont combinées à l'utilisation de produits chimiques, peuvent aider à contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles. Cependant, il n'est pas recommandé d'utiliser uniquement ces techniques pour lutter contre la varroase puisque ces dernières présentent une efficacité limitée

(Eccles et al., 2016; The Honey Bee Health Coalition, 2016). Leur utilisation peut toutefois s'avérer grandement utile dans le but de maintenir les infestations par le varroa à de faibles niveaux durant toute la saison apicole et ainsi permettre aux apiculteurs d'utiliser des produits organiques plutôt que des acaricides de synthèse et d'alterner les traitements au fil des saisons (Eccles et al., 2016). Parmi les techniques recommandées, notons : le retrait du couvain de mâle, l'interruption du cycle de couvain, l'utilisation de plateaux grillagés anti-varroas et la sélection génétique en vue d'obtenir des populations au comportement hygiénique et résistantes aux maladies (ex. lignées VSH : Varroa Sensitive Hygiene).

**Retrait du couvain de mâles** : La technique consiste à placer un cadre de cellules de faux bourdons ou un cadre bâti dont la moitié inférieure du rayon a été retirée (afin qu'il soit rebâti par les ouvrières en cellules de faux bourdons) en bordure de la chambre à couvain. La reine y déposera des œufs de mâles (non fécondés) et, sachant que les varroas préfèrent ce type de couvain, ces derniers y pénétreront. Une fois les cellules operculées, ces cadres sont retirés et détruits, emprisonnant une quantité non négligeable de parasites (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2014; Wantuch & Tapy, 2009).

**Interruption du cycle de couvain (division des colonies)** : Il s'agit simplement de faire un nucléus à partir d'une colonie. On s'assure ainsi de diviser la charge totale de varroas par colonie afin d'en ralentir la progression. De plus, la division des colonies provoque un arrêt dans le cycle du couvain de la ruche, ce qui ralentit la multiplication des varroas (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2014).

**Plateau grillagé anti-varroas** : Le plateau anti-varroa est un plateau entièrement grillagé placé sur la base servant de support à la ruche. Les varroas et autres déchets de la ruche tombent ainsi à travers le grillage qui empêche alors les varroas d'entrer en contact direct avec les abeilles. Un carton collant peut également être placé au fond de la ruche, sous le grillage, dans une optique de dépistage ou simplement pour piéger les varroas tombés (The Honey Bee Health Coalition, 2016).

**Sélection génétique** : Lors du remérage des colonies, souvent effectué à la fin du printemps ou en été, il est fortement recommandé de remplacer les reines par d'autres provenant de lignées résistantes à l'acarien varroa (Ministère de l'agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, 2014). Le comportement d'épouillage, par exemple, permet aux ouvrières de retirer physiquement les varroas présents sur leur corps à l'aide de leurs pattes et de leurs mandibules (Pritchard, 2016). Le comportement hygiénique, quant à lui, implique la détection par les ouvrières des cellules de couvain infectées par diverses maladies ou parasites et le retrait des larves malades (Spivak & Gilliam, 1998). Ces comportements sont présents à différents degrés chez les abeilles ouvrières, ce qui confère à certaines colonies d'abeilles un degré de résistance plus élevé aux varroas et autres maladies (Hamiduzzaman et al., 2017; Spivak & Gilliam, 1998). Les colonies les plus résistantes à la varroase sont celles présentant le comportement VSH. En effet, les ouvrières issues de lignées VSH sont capables de

détecter la présence du varroa plus efficacement, puis de désoperculer la cellule de couvain afin de retirer la puppe d'abeille et les femelles varroa qui s'y trouvent, rompant ainsi leur cycle de reproduction (Ibrahim & Spivak, 2006; Mondet et al., 2016). Le comportement VSH est présentement au cœur de nombreux travaux de recherche et programmes de sélection génétique (Centre de recherche en sciences animales de Deschambault, 2016; Danka et al., 2016; Kirrane et al., 2015; Rinderer et al., 2014). Toutefois, la sélection génétique ne peut représenter à elle seule une méthode de lutte suffisante pour contrôler le parasite. D'ailleurs, puisque le transport des femelles varroas par les abeilles butineuses influence significativement la croissance des populations de *V. destructor*, il semblerait que les attributs génétiques des lignées résistantes à la varroase ne soient pas suffisants pour maintenir les populations de varroas à des niveaux plus faibles par rapport aux lignées non résistantes (DeGrandi-Hoffman et al., 2017).

#### 1.4.7.3 Lutte biologique

À l'heure actuelle, il n'existe aucune méthode de lutte biologique qui soit efficace pour contrôler la varroase. D'ailleurs, selon une importante revue de littérature portant sur le sujet, aucun ennemi naturel de *Varroa* spp. n'a été identifié comme étant prometteur pour lutter contre le parasite, autant chez *Apis cerena* que chez *Apis mellifera* (Chandler et al., 2001). Ainsi, la lutte biologique contre le varroa nécessitera sans doute l'utilisation d'agents biologiques ayant comme hôtes naturels d'autres espèces d'acariens. Selon Chandler et al. (2001), un bon agent de lutte biologique contre le varroa devrait présenter les caractéristiques suivantes : 1) une létalité élevée contre les acariens, surtout ceux qui sont phylogénétiquement proches du varroa et qui occupent une niche trophique similaire, et 2) une capacité à fonctionner sous les conditions physiques normales d'une colonie d'abeilles. La spécificité de l'agent utilisé, son impact sur l'environnement et la facilité avec laquelle l'ennemi naturel peut être produit en masse sont aussi des facteurs à considérer (Hamiduzzaman et al., 2012; Kanga et al., 2002). Le développement d'une méthode de lutte biologique efficace contre la varroase offrirait plusieurs avantages par rapport à la lutte chimique en réduisant, entre autres, la contamination chimique des produits de la ruche, les impacts négatifs sur la santé des abeilles et les inconvénients liés à la résistance du parasite aux pesticides (Rosenkranz et al., 2010).

Parmi les auxiliaires pouvant être utilisés en lutte biologique, les champignons entomopathogènes semblent les plus prometteurs, de même que la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Alquisira-Ramirez et al., 2014; Chandler et al., 2001; Vincent Dietemann et al., 2012). Les champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana*, *Metharizium anisopliae*, *Clonostachys rosea* et *Hirsutella thompsonii* ont d'ailleurs démontré certains degrés de contrôle contre *V. destructor* lors d'essais in vivo (Hamiduzzaman et al., 2012; Kanga et al., 2002; Kanga et al., 2006). Toutefois, ces champignons s'avèrent également pathogéniques pour les abeilles et peuvent nuire, entre autres, au développement du couvain (Hamiduzzaman et al., 2012; Meikle et al., 2012). Il est aussi important de considérer que les abeilles mettent en place de nombreuses stratégies afin d'assurer une

bonne hygiène au sein de leur colonie, ce qui pourrait entraver l'efficacité de certains pathogènes (Chandler et al., 2001; Meikle et al., 2012). Dans tous les cas, des travaux de recherche supplémentaires sont nécessaires afin de connaître l'effet de ces microorganismes sur l'abeille.

D'un autre côté, selon Chandler et al. (2001), les parasitoïdes et les prédateurs semblent être très peu adaptés pour lutter contre *V. destructor*. D'une part, puisque les parasitoïdes se reproduisent généralement en parasitant les stades immatures de leurs hôtes, il est très peu probable que ces derniers puissent avoir un effet sur le varroa puisque l'accès aux œufs et aux nymphes du parasite est bloqué par l'opercule recouvrant la cellule de couvain d'abeilles où se déroule leur développement. Par ailleurs, selon les travaux des mêmes auteurs, aucun prédateur spécialiste d'acariens ectoparasites ou de tiques n'a été recensé dans la littérature scientifique. Les prédateurs généralistes, quant à eux, semblent peu susceptibles d'attaquer les femelles varroas adultes sur le corps des abeilles et leur accès aux œufs et aux nymphes de varroas est limité par la courte période effective durant laquelle le prédateur pourrait entrer dans la cellule de couvain en même temps que le parasite. De plus, l'utilisation de prédateurs généralistes en apiculture implique un risque important de prédation des œufs et du couvain d'abeilles (Chandler et al., 2001).

De par leur écologie ou leurs caractéristiques spécifiques, certains prédateurs généralistes présentent tout de même un intérêt comme agent de lutte contre le varroa. Quelques études se sont d'ailleurs intéressées au potentiel des pseudoscorpions, naturellement présents dans les colonies d'abeilles dans plusieurs régions du monde, à contrôler *V. destructor* (Fagan et al., 2012; Read et al., 2014; van Toor et al., 2015). Par ailleurs, l'acarien prédateur généraliste *Stratiolaelaps scimitus*, déjà commercialisé comme agent de lutte biologique contre plusieurs espèces de mouches sciarides et de thrips, fait actuellement l'objet d'une attention particulière pour son potentiel de prédation du varroa (Scott, 2014).

## **1.5. *Stratiolaelaps scimitus***

### **1.5.1 Description**

*Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) est un acarien prédateur généraliste de la famille des Laelapidae. Autrefois nommé *Hyposapis miles* (Berlese) et parfois confondu avec *Stratiolaelaps miles* (Berlese), le prédateur se retrouve à l'état naturel dans tout l'hémisphère Nord (Walter & Campbell, 2003). *Stratiolaelaps scimitus* vit dans la couche supérieure du sol où il s'alimente des stades édaphiques de certains insectes, d'acariens, de nématodes et de plusieurs autres invertébrés (Cabrera et al., 2005; Navarro-Campos et al., 2016). Comme les autres membres de sa famille, l'acarien figure parmi les prédateurs de sol les plus agressifs (Walter & Campbell, 2003), ce qui fait de lui un agent de lutte biologique hautement utilisé en serriculture.

L'acarien adulte est de couleur brun pâle, il mesure entre 0,5 et 1 mm de longueur et présente une marque caractéristique plus foncée en forme de « V » sur la face dorsale de son corps (Chambers et al., 1993; figure 4). On peut donc l'observer à l'œil nu, se déplaçant rapidement à la surface du sol. Les mâles sont plus petits que les femelles et sont légèrement plus foncés. Les larves sont blanches et n'ont que 6 pattes, tandis que les nymphes ressemblent aux adultes, mais sont de plus petite taille (Wright & Chambers, 1994).



**Figure 4. Femelle *Stratiolaelaps scimitus* adulte.** Notez la marque caractéristique plus foncée en forme de « V ». (Photo : Sabrina Rondeau, 2016)

### 1.5.2 Biologie et écologie

Bien que *S. scimitus* soit polyphage, plusieurs de ses caractéristiques biologiques, telles que la durée de son développement, la fécondité des femelles, le sex-ratio de sa progéniture et la longévité des adultes, varient en fonction du type de proies consommées et de la température environnante (Cabrera et al., 2005; Enkegaard et al., 1997; Navarro-Campos et al., 2016; Wright & Chambers, 1994). Ainsi, selon la source de nourriture disponible, son cycle de développement (de l'œuf à l'adulte) se déroule en 14 à 18 jours à 20°C (Enkegaard et al., 1997; Wright & Chambers, 1994), la durée du cycle étant inversement proportionnelle à la température.

En général, le prédateur peut se développer et se reproduire dans un intervalle de température se situant entre 15°C et 30°C, avec une température optimale de 25°C (Ydergaard et al., 1997). La limite de température inférieure à laquelle l'acarien peut compléter son cycle de développement se situe entre 10°C et 12°C (Wright & Chambers, 1994), bien que les adultes puissent survivre durant plusieurs semaines à une température de 10°C (Steiner et al., 1999). À 32°C, la mortalité des œufs est élevée et les femelles qui réussissent à se développer pondent peu d'œufs durant leur vie adulte (Wright & Chambers, 1994). Par ailleurs, *S. scimitus* recherche des endroits humides et ne peut pas survivre dans un environnement sec (Wright &

Chambers, 1994). En laboratoire, l'élevage du prédateur s'effectue à la noirceur, à une température de 25°C et une humidité relative se situant entre 60 et 90%, selon les auteurs (Barbosa & de Moraes, 2016; Freire & De Moraes, 2007; Steiner et al., 1999).

Le sex-ratio ( $\frac{\text{♀}}{\text{♀}+\text{♂}}$ ) est généralement biaisé en faveur des femelles (Enkegaard et al., 1997; Ydergaard et al., 1997). Selon le type de proies consommées, les femelles *S. scimitus* pondent de un à trois œufs par jour durant leur période d'oviposition (Enkegaard et al., 1997; Wright & Chambers, 1994; Ydergaard et al., 1997). Par ailleurs, Enkegaard et al. (1997) ont observé un taux de ponte supérieur au début de la période d'oviposition, qui s'estompe graduellement avec le temps. Ainsi, lorsqu'elles sont nourries avec des larves de sciarides, les femelles pondent en moyenne 44 œufs au cours de leur vie (Enkegaard et al., 1997). Les œufs non fécondés donneront naissance à des mâles (arrhénotoquie), tandis que les œufs fécondés se développeront en un ou l'autre des deux sexes (Enkegaard et al., 1997; Wright & Chambers, 1994). Ce type de reproduction est responsable de la variation du sex-ratio en fonction de la température (Ydergaard et al., 1997). En effet, aux extrêmes de leur intervalle de température, les adultes deviennent moins actifs, ce qui réduit le nombre de rencontres entre les mâles et les femelles. Un plus grand nombre d'œufs demeurent donc non fécondés et se développent en mâles, faisant passer le sex-ratio de 0,90 à 0,74 entre 25 et 30°C (Ydergaard et al., 1997).

Deux à trois jours après leur ponte, les œufs se développent en jeunes larves qui passeront ensuite par deux stades nymphaux, la protonympe et la deutonympe, avant d'atteindre le stade adulte (Enkegaard et al., 1997). Après une période de préoviposition qui dure de trois à neuf jours, l'acarien femelle pondra des œufs durant deux à trois mois après lesquels elle continuera à vivre et à se nourrir pendant un à deux mois (Enkegaard et al., 1997; Wright & Chambers, 1994). Ainsi, lorsque l'acarien est élevé en laboratoire, la longévité moyenne des femelles varie de 82 à 110 jours selon la diète offerte, tandis que celle des mâles varie de 168 à 219 jours et ne semble pas être influencée par la source de nourriture disponible (Enkegaard et al., 1997). Une étude similaire révèle également une longévité minimale des acariens adultes de 142 jours chez 60% des mâles et des femelles (Wright & Chambers, 1994).

*Stratiolaelaps scimitus* commence à s'alimenter uniquement à partir du stade de protonympe (Cabrera et al., 2005; Enkegaard et al., 1997). Son alimentation inclut plusieurs espèces d'acariens de la famille des Acaridae, des larves de sciarides (*Bradysia* spp.) et de mouches des rivages (*Scatella* spp.), des collemboles, des nématodes, des enchytrées et des pupes de thrips, de mineuses des feuilles et de cécidomyies (Barbosa & de Moraes, 2016; Cabrera et al., 2005; Enkegaard et al., 1997; Navarro-Campos et al., 2016). La consommation quotidienne de proies par *S. scimitus* dépend à la fois du type et de la taille de ces dernières. À titre d'exemple, chaque adulte *S. scimitus* consomme en moyenne d'une à sept larves de sciarides ou 22 acariens de la moisissure (*Tyrophagus putrescentiae*) par jour (Enkegaard et al., 1997; Wright & Chambers,



1994), tandis que les œufs de sciarides ne sont généralement pas perçus comme des proies potentielles (Wright & Chambers, 1994). En effet, le mouvement semble jouer un rôle important pour la localisation des proies par le prédateur (Wright & Chambers, 1994). Par ailleurs, il semble que les proies de trop grande taille, tel que le 4<sup>e</sup> stade larvaire des sciarides faisant sept fois la taille de l'acarien, ne soient pas toujours attaquées (Wright & Chambers, 1994). La consommation quotidienne de proies est environ deux fois plus élevée chez les adultes que chez les stades nymphaux, les femelles adultes étant les plus voraces (Berndt, Poehling, et al., 2004; Enkegaard et al., 1997).

L'acarien est très résistant aux périodes de disette et l'adulte peut survivre en moyenne 24 jours sans nourriture (Wright & Chambers, 1994). De plus, une période d'abondance de nourriture de six jours précédant le jeûne permet aux acariens d'augmenter leur durée moyenne de survie à 65 jours chez les femelles et 45 jours chez les mâles (Wright & Chambers, 1994). Au cours de la première semaine de jeûne, les femelles cessent de pondre tandis que les protonymphes et les deutonymphes cessent de se développer (Wright & Chambers, 1994). Le cannibalisme des larves et des nymphes peut également survenir (Berndt et al., 2003).

### 1.5.3 *Stratiolaelaps scimitus* comme agent de lutte biologique

Au Canada, *S. scimitus* a d'abord été commercialisé sous le nom de *Hypoaspis miles* par Applied Bio-nomics Ltd, une compagnie spécialisée dans la production et la distribution d'agents de lutte biologique et située en Colombie-Britannique (Cabrera et al., 2005). Ainsi, dès le début des années 90', l'acarien était utilisé pour contrôler les larves de la mouche sciaride *Bradysia paupera* dans les cultures de plantes ornementales (cyclamen et poinsettia) sous serre (Chambers et al., 1993; Wright & Chambers, 1994). Le potentiel du prédateur à lutter contre trois autres espèces de sciarides s'attaquant aux cultures de champignons, *Lycoriella solani* (Ali et al., 1999; Enkegaard et al., 1997; Jess & Kilpatrick, 2000), *Lycoriella ingenua* (Jess & Schweizer, 2009) et *Bradysia matogrossensis* (Castilho et al., 2009; Prado Freire et al., 2007), a été démontré quelques années plus tard. De plus, dans les cultures de champignons de Paris (*Agaricus bisporus*), son utilisation serait aussi compatible avec certains insecticides utilisés pour lutter contre les sciarides (Ali et al., 1999).

Au fil des années, l'efficacité de *S. scimitus* à contrôler les populations de thrips, un autre groupe de ravageurs d'importance en serriculture, a été mise en évidence. En effet, qu'il soit utilisé seul ou en combinaison avec d'autres antagonistes naturels, l'acarien terricole s'avère efficace pour lutter contre les pupes du thrips des petits fruits, *Frankliniella occidentalis* (Berndt, Meyhofer, et al., 2004; Gao & Wu, 2015; Rahman et al., 2011; Wu et al., 2016) et celles du thrips du tabac et de l'oignon (*Thrips tabaci*) (Gao & Wu, 2015) dans les cultures de fraises et de concombres sous serre. Lorsque son introduction est combinée à celle d'autres acariens prédateurs, *S. scimitus* contribue à lutter contre *F. occidentalis* dans les cultures de fraises sous mini-tunnels (Rahman et al., 2012). Par ailleurs, l'utilisation simultanée de *S. scimitus* et de certains champignons

entomopathogènes semble améliorer le contrôle des pupes de *F. occidentalis* en laboratoire (Saito & Brownbridge, 2016).

Plus récemment, *S. scimitus* s'est démarqué par son efficacité antiparasitaire dans le secteur de l'élevage animalier. En effet, de récentes études ont démontré le potentiel de prédation de l'acarien envers le pou rouge de la volaille (*Dermanyssus gallinae*), un ectoparasite causant des pertes économiques importantes pour l'industrie des œufs de consommation (Ali et al., 2012; Lesna et al., 2012). De plus, le prédateur semble avoir le potentiel de contrôler les infestations d'acariens parasites dans les élevages de lézards en quelques jours seulement (Mendyk, 2015). Des études supplémentaires sont toutefois requises afin de confirmer l'efficacité du prédateur comme agent de lutte biologique contre l'un ou l'autre de ces parasites.

Dans la plupart des cas, *S. scimitus* est utilisé en lutte biologique augmentative, bien que Prischmann et al. (2011) se soient également intéressés au potentiel de l'acarien en lutte biologique conservative contre les larves de la chrysomèle des racines du maïs (*Diabrotica virgifera virgifera*). En lutte biologique, un des plus grands attributs de l'acarien est sa résistance au manque de nourriture (Chambers et al., 1993). De plus, il est plutôt économique, se disperse rapidement dans les zones traitées et persiste longtemps dans l'environnement. Toutefois, malgré son succès comme agent de biocontrôle, *S. scimitus* s'avère parfois inefficace à lutter contre certains ravageurs pourtant contrôlés par d'autres espèces de Laelapidae (Lesna et al., 1995; Vanninen & Koskula, 2004). Apparemment, bien qu'il soit polyphage, *S. scimitus* est très sélectif dans le choix de ses proies et, dans certains cas, se laissera mourir de faim même en présence de proies potentielles (Lesna et al., 1995).

#### 1.5.4 *Stratiolaelaps scimitus* comme agent de lutte contre le varroa

Récemment, *S. scimitus* a été mis de l'avant comme agent de lutte potentiel contre le varroa. En effet, plusieurs de ses caractéristiques font de lui un agent prometteur, dont sa diète variée, sa grande voracité et sa tolérance aux températures chaudes et humides. Afin que le prédateur puisse être utilisé en apiculture, il est important que ce dernier puisse s'adapter à son nouvel environnement : la colonie d'abeilles. Les conditions physiques d'un nid d'abeilles (ruche) peuvent varier selon la région de la ruche, mais la température et l'humidité de la chambre à couvain sont contrôlées avec une grande précision. En effet, afin que le couvain puisse se développer normalement, les abeilles maintiennent la température de la chambre à couvain entre 32°C et 36°C, avec une température optimale de 35°C (Jones et al., 2004). En période d'absence de couvain (automne/hiver), la température au centre de la grappe d'abeilles est plutôt maintenue aux alentours de 21°C (Fahrenholz et al., 1989). D'un autre côté, l'humidité relative dans la colonie peut varier considérablement (entre 50% et 80%), avec un optimum de 75% (Ellis et al., 2008). Vu la gamme de températures pouvant être tolérée par *S. scimitus* et l'humidité nécessaire à son développement, il ne serait pas surprenant que ce dernier puisse s'adapter aux conditions de ruche. Toutefois, cette supposition reste à étudier.

Depuis quelques années, *S. scimitus* est utilisé par certains apiculteurs aux États-Unis, en Europe et au Canada en vue d'évaluer son efficacité à contrôler la varroase dans les colonies d'abeilles (Sagili, 2014). Au Canada, par exemple, la compagnie Applied Bio-nomics distribue le prédateur aux apiculteurs désirant expérimenter cette méthode de lutte biologique. D'ailleurs, le potentiel de l'acarien prédateur à attaquer et à consommer le varroa a récemment été démontré à l'aide de tests in vitro réalisés à l'Université du Texas A&M (Rangel & Ward, 2018). Cependant, il existe très peu de données scientifiques sur l'efficacité réelle du prédateur comme méthode de lutte antiparasitaire.

Parmi les quelques données disponibles à ce jour, Sagili (2014) et Rangel & Ward (2018) n'ont pas observé de réduction significative des populations de varroas chez les colonies traitées avec *S. scimitus* comparativement à l'absence de traitement. Par contre, des observations préliminaires effectuées par le Niagara Beeway en Ontario sont plus optimistes et tendent à témoigner de l'efficacité du prédateur à effectuer un certain contrôle du parasite apicole (Scott, 2014). Lors de ces observations, un mélange de vermiculite et de tourbe abritant *S. scimitus* a été appliqué sur le dessus des cadres de la chambre à couvain lors de deux inoculations successives : l'une en mai et l'autre en septembre. Suite à l'inoculation d'automne, un dépistage en chute naturelle du varroa a révélé, selon l'auteur, un taux de mortalité similaire à celui généralement obtenu lors d'un traitement acaricide à l'acide formique.

## 1.6. Objectifs et hypothèses de recherche

### 1.6.1 Objectif général

L'objectif général de ce projet de recherche était de tester l'efficacité de l'acarien prédateur *S. scimitus* comme méthode de lutte biologique contre le parasite apicole *V. destructor*.

Pour ce faire, les travaux de recherche ont été divisés en trois volets.

### 1.6.2 Premier volet

*Objectif spécifique* : Évaluer le risque de prédation du couvain d'abeille domestique par l'agent de lutte biologique *S. scimitus* en laboratoire et en ruche.

*Hypothèse* :

- Assumant que la mobilité joue un rôle dans la détection des proies par *S. scimitus* (Berndt, Meyhofer, et al., 2004; Wright & Chambers, 1994);

- Assumant que *S. scimitus* préfère les proies de petite taille (Wright & Chambers, 1994);
- Sachant que les œufs d'abeille sont immobiles et que les larves d'abeille sont beaucoup plus grosses que les proies généralement consommées par *S. scimitus* (Human et al., 2013; Wright & Chambers, 1994);
- Assumant que les abeilles ouvrières protégeront le couvain au sein de la colonie - en empêchant les prédateurs d'entrer dans les cellules et en retirant ceux ayant réussi à y entrer – au cours de leur routine de nettoyage (Chandler et al., 2001; Winston, 1987);

Nous posons l'**hypothèse** selon laquelle l'utilisation du prédateur *S. scimitus* pour lutter contre le varroa ne pose pas de risque de prédation pour les œufs, les larves et les pupes d'abeille dans les colonies (en ruche).

### 1.6.3 Deuxième volet

*Objectif spécifique* : Déterminer le potentiel de prédation de l'acarien *S. scimitus* envers les varroas phorétiques (varroas se trouvant sur le corps des abeilles).

*Hypothèse* :

- Sachant que *S. scimitus* s'attaque aux varroas libres en laboratoire (Rangel et Ward, 2018);
- Sachant que *S. scimitus* est efficace à contrôler des infestations d'acariens hématophages chez certains animaux en captivité (Lesna et al., 2012; Mendyk, 2015);
- Sachant que plusieurs espèces de Laelapidae sont phorétiques, dont certaines chez les abeilles charpentières (Apidae : *Xylocopa*) [ex : *Stigmatolaelaps* spp. et *Dinogamasus* spp.] et les bourdons (Apidae : *Bombus*) [ex : *Pneumolaelaps* spp.] (Krantz, 1998; Malek-Shahkoobi et al., 2014; Pouvreau, 1973);

Nous posons l'**hypothèse** que l'agent de lutte a le potentiel d'attaquer les varroas phorétiques.

### 1.6.4 Troisième volet

*Objectif spécifique* : Évaluer l'efficacité du prédateur *S. scimitus* à réguler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles domestiques (c-à-d. maintenir sous le seuil économique): 1) lors d'un traitement d'automne (septembre), en comparaison avec le thymol, et 2) lors d'un traitement complémentaire (novembre), en comparaison avec l'acide oxalique.

### *Hypothèse :*

- Considérant l'efficacité suggérée par le Niagara Beeway (Scott, 2014) et certains apiculteurs ayant introduit *S. scimitus* dans leur ruches (Spencer B., Applied Bio-nomics, comm. pers.);

Nous posons l'**hypothèse** selon laquelle l'introduction de *S. scimitus* en automne permet de réduire les populations de varroas dans les colonies d'abeilles, selon la dose et la méthode d'introduction actuellement recommandées.

## **1.7. Approche méthodologique**

Ce projet de recherche a débuté en mai 2016 et s'est poursuivi jusqu'en avril 2018. Une partie des essais a été effectuée en laboratoire dans des conditions reflétant le plus fidèlement possible celles retrouvées à l'intérieur d'une colonie d'abeille (volets 1 et 2), tandis que d'autres essais ont été effectués en ruches (volets 1 et 3). Les colonies utilisées dans le cadre de ces essais provenaient de la station apicole du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD). L'utilisation de colonies provenant du CRSAD confère l'avantage de connaître l'histoire de vie et la génétique des colonies à l'étude. Les colonies utilisées dans le cadre de ce projet étaient de force équivalente, avaient des reines sœurs de descendance connue et un niveau d'infestation par le varroa semblable.

Le prédateur *S. scimitus* nous a été fourni par la compagnie Applied Bio-nomics, située à Victoria en Colombie-Britannique. Applied Bio-nomics est l'un des plus importants producteurs d'agents de lutte biologique à l'échelle mondiale et fournit plusieurs distributeurs en Amérique du Nord et en Europe. La compagnie distribue l'acarien *S. scimitus* dans des bouteilles de 1 litre contenant environ 25 000 acariens mélangés à un substrat de vermiculite et de tourbe.

**Chapitre 2<sup>3</sup>: Risk assessment and predation potential of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bees**

---

<sup>3</sup> Article corédigé par Sabrina Rondeau, Pierre Giovenazzo et Valérie Fournier. Soumis au journal PLOS ONE le 18 avril 2018 (identifiant : PONE-D-18-11632).

## Résumé

Notre étude visait à étudier le potentiel de l'acarien prédateur *Stratiolaelaps scimitus* à contrôler les infestations de varroas chez l'abeille domestique. Des essais ont été effectués pour: (1) évaluer le risque de prédation du couvain d'abeilles par *S. scimitus*, et (2) évaluer le potentiel de prédation de *S. scimitus* envers les varroas phorétiques. En conditions de laboratoire, *S. scimitus* s'est attaqué à tous les stades de couvain d'abeilles, avec une préférence marquée pour les œufs. Cependant, suite à son introduction en ruche, *S. scimitus* n'a pas eu d'effets négatifs sur la survie du couvain. Nos essais ont également révélé que *S. scimitus* n'attaque pas les varroas lorsqu'ils se trouvent sur le corps des abeilles. Cette étude fournit des preuves que le prédateur ne représente pas une menace pour le couvain d'abeilles, mais suggère que son impact sur le contrôle du varroa sera limité puisqu'il n'attaque pas les varroas phorétiques.

## Abstract

Our study aimed to investigate the potential of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* to control varroa infestations in honey bees. Tests on safety and predation were carried out to: (1) assess the risk of predation of the bee brood by *S. scimitus*, and (2) evaluate the predation potential of *S. scimitus* on phoretic varroa mites. Under laboratory conditions, *S. scimitus* attacked every unprotected bee brood stages with a strong preference for bee eggs. When introduced inside colonies, however, *S. scimitus* does not have negative effects on the survival of the bee brood. Moreover, our observations revealed that *S. scimitus* does not attack varroa mites when they are attached to the body of bees. This study provides evidence that *S. scimitus* does not represent a threat to the bee brood, but also suggests that its effect in varroa control will probably be limited as it does not attack phoretic varroa mites.



## Introduction

The ectoparasitic mite *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae) is considered as the most damaging honey bee (*Apis mellifera* L.) pest worldwide [1, 2]. Since its introduction in Europe in the 1970s and in North America in the 1980s [3], the varroa mite has caused major damages and economic losses to the beekeeping industry [4, 5]. In North temperate regions of America and much of Europe, the pest is also a key factor of high winter colony losses [6-8]. Through direct physical damages to honey bees [3, 9] and transmission/activation of many honey bee viruses [10-12], an untreated infested colony will most likely die within months [13].

Controlling varroa mite populations in honey bee colonies is challenging as there exists no one-fits-all approach to get rid of the pest. Even though synthetic acaricides have been successfully used for varroa control in the past years [14], the development of mite resistance now limits their use [15-17]. As alternative treatments, some “natural chemicals” such as organic acids and essential oils are increasingly used by beekeepers but also have disadvantages such as variable toxic effect on bees [18-22], possible contamination of wax and honey [23, 24] and an effectiveness dependent on environmental conditions [25]. Thus, Integrated Pest Management (IPM), which combines non-chemical and chemical methods with varroa infestation thresholds, is currently considered as the best approach to controlling varroa and aims to reduce beekeepers' reliance on synthetic acaricides [3, 26, 27].

The biocontrol of varroa mites is an underexploited but promising avenue that could enhance an IPM strategy. Despite all the known benefits of the biological pest control, little research has been done on the use of living organisms to control varroa mites. In addition to killing varroa mites, a good candidate biocontrol agent should have: (1) the ability to operate under the physical conditions of a honey bee colony, (2) the ease of targeting against the varroa, and (3) the potential for mass production [28]. According to Chandler et al. [28], as *V. destructor* seems to be relatively free of natural enemies, its biocontrol is likely to require natural enemies from other hosts. Likewise, the absence of identified specialist enemies of varroa mites [29] brings us to consider generalist predators as potential biocontrol agents.

Due to its ecology and specific characteristics, the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae), formerly known as *Hypoaspis miles* (Berlese), appears to be particularly promising as a biocontrol agent against varroa mites. *Stratiolaelaps scimitus* is a polyphagous soil-dwelling mite naturally occurring throughout the Northern hemisphere [30]. It preys upon many soil organisms such as thrips nymphs, nematodes, phorid and sciarid fly larvae and several species of mites and other invertebrates [31-33]. The predatory mite thrives in hot and humid environments and can survive temperatures up to 32°C [34], which suggests its adaptability to the conditions observed within a honey bee colony. Already mass-reared and

commercially available in North America and Europe [32], *S. scimitus* has proven to be useful in the biocontrol of fungus gnats and thrips of protected crops [35-39] and is now known to reduce infestations of the poultry red mite on chicken livestock in small cages [40]. More recently, the pet industry has also started using *S. scimitus* as a means to control parasitic mites on reptiles in captivity [41] although little data is available on the actual effectiveness of this practice.

Nowadays, some beekeepers in the United States, Canada and Europe are using *S. scimitus* for varroa mite control in honey bee colonies but to date, no scientific study has shown the effectiveness of the investigated biocontrol agent to control varroa populations *in situ*. A team of researchers from Texas (USA) has recently demonstrated, using *in vitro* trials, that *S. scimitus* indeed attacks and feeds upon free varroa mites [42]. However, little is known about its effectiveness in the hive and while some anecdotal observations made in Ontario (Canada) suggest that *S. scimitus* would reduce varroa mite populations when introduced in honey bee colonies [43], a similar field experiment resulted in ineffective varroa control [42]. Despite these contradictory results and the lack of experimental proof of effectiveness, some biocontrol suppliers are now selling *S. scimitus* for varroa control. Considering that effective varroa control is a key factor for honey bee colony survival [44], the use of a method whose real effectiveness is unknown could have detrimental consequences for the apiarists' bee stocks and the beekeeper's perception of biocontrol.

Before demonstrating the impact of *S. scimitus* in varroa biocontrol inside the honey bee colony, it is judicious to test its safety and predation effectiveness in lab bioassays. Indeed, as previously put forward by Chandler et al. [28], there is a significant risk that any generalist predator introduced in a colony as a means of varroa control would consume bee eggs. Another important factor to consider is that to be effective, the predator must be able to attack phoretic varroa mites and not just the free mites. Free varroa mites are not common in a bee colony as the mites are found either attached to the body of an adult bee (phoretic stage) or parasitizing a pupa in a capped brood cell (reproductive stage) [5, 45]. Therefore, as *S. scimitus* cannot reach reproducing varroa mites because they are protected by a wax cap, it must attack those parasitizing adult bees for the treatment to be effective.

Our study aimed to investigate the potential of *S. scimitus* to control varroa mite infestations in honey bees. The specific objectives of this paper were: (1) to assess the risk of predation of honey bee brood by *S. scimitus* under both laboratory conditions and within the colony, and (2) to evaluate the predation potential of *S. scimitus* on phoretic varroa mites. According to what we know from the literature, we hypothesized that the use of *S. scimitus* in varroa biocontrol would not be a threat to the honey bee brood. In fact, the bee brood does not correspond to the type of prey typically consumed by *S. scimitus* [34, 39]. We also believe that *S. scimitus* is a potential predator of phoretic varroa mites. This hypothesis is supported by the use of the predatory mite to

control hematophagous mites in infested animals [40, 46] and the few anecdotal reports by beekeepers of varroa population reductions. Assessing both the risk and the predation potential of *S. scimitus* to control varroa mites is a very important step in the study of this biocontrol agent in beekeeping.

## Materials and Methods

### Livestock sources and maintenance

*Stratiolaelaps scimitus* was obtained from Applied Bio-nomics Ltd. (British Columbia, Canada). Mites were supplied in a mixture of vermiculite and peat in 1L bottles with mold mites (*Tyrophagus putrescentiae*) as a food source. The predatory mites were stored in their original containers, lying on their side in complete darkness at 15°C, and were regularly checked for predator vitality and the presence of prey.

Adult female varroa mites were collected following the “Icing Sugar” method described in Dieteman et al. [1] and came from infested hives located in apiaries of various beekeepers near Quebec City (Quebec, Canada). Mites were maintained alive by confining them by groups of five on a drone pupa in a 1 ml Eppendorf tube pierced with two holes for ventilation and kept in an incubator (34°C, 70% RH, complete darkness). Varroa mites were successfully kept this way for up to one week.

Honey bee (*Apis mellifera*) brood was sampled from a single hive located in the city of Levis (46°44'56.02"N, 71°10'2.17"O), 15 km from our laboratory at the Université Laval. Eggs and larvae were gently sampled with a small paintbrush and transferred in a small Petri dish (50 x 12 mm) containing a moistened filter paper. Capped pupae cells were carefully cut with a scalpel directly from brood frames and transferred to the same Petri dish. Only worker brood was used. Samples were quickly transferred into an incubator and maintained under controlled conditions (34°C, 70% RH, complete darkness) until their transfer in the arenas.

Adult worker bees were collected from the livestock of a bee research facility in Quebec (Centre de recherche en sciences animales de Deschambault, CRSAD, 46°43'6.00"N, 71°33'5.79"O) and were used immediately following their collection. Similarly, all the colonies used in our study were operated by the CRSAD.

### *In vitro* assessment of *S. scimitus* predation upon *V. destructor* and bee brood

The tests took place between July 21 and September 1st 2016. There were six treatments representing potential prey for *S. scimitus*: 1) adult female varroa mite; 2) honey bee egg; 3) 1st or 2nd bee larval instar (L1-L2); 4) 3rd or 4th bee larval instar (L3-L4); 5) 5th bee larval instar (L5); and 6) capped bee pupa.

Experimental arenas consisted of small glass vials (5 ml) filled with 1 cm of pre-autoclaved vermiculite and moistened with 0.3 ml of tap water (Fig 5a). Only adult female predators were used, and each one was starved individually for 48h in small portion containers (1 oz) with a piece of moistened tissue paper prior to their transfer in the arenas. Twenty starved predators were transferred to each arena with a fine paintbrush. Then, one single prey was added according to the treatment. Vials were closed with a piece of Nitex® synthetic nylon screening (105 µm) and a rubber band, allowing for ventilation while blocking mite escape. Arenas were held in an incubator (34°C, 70% RH, complete darkness) throughout the duration of the tests. A saltwater pool helped to maintain the desired humidity in the incubator.

After 12 h, each prey was observed using a stereomicroscope and was scored as follows: alive without predation, dead without predation, alive with predation, dead with predation or fully consumed. The presence of visible wounds or missing parts (legs, antennae, cuticle parts) were considered as signs of predation. Prey viability was determined by the presence of movements when touched with a fine paintbrush. If predation did not take place after 12 h, the prey was replaced by a fresh one. Arenas were then returned to the incubator for an additional 12 h and the prey were checked one last time. At the end of the test, a count of living and dead predators was done to ensure that a reasonable number of predators was still in the arena. For each treatment, a control arena (with a prey but without predators) allowed us to observe the normal appearance of the prey in absence of predation. For each trial period (block), all six treatments were tested simultaneously according to a randomized block design and each treatment was repeated 20 times.

### Prey preference test

In order to determine if the predatory mite will more likely attack honey bee eggs or varroa mites in the first place, a prey preference test was conducted using the same experimental arenas as described above. The experiment took place in the laboratory on August 5, 12 and 19, 2016 and included 10 replicates for each date (for a total of 30 replicates). Ten starved predatory mites were transferred to each arena with one honey bee egg and one female varroa mite added simultaneously. For each arena, the order of prey introduction was randomly determined. Once closed, arenas were held in an incubator (34°C, 70% RH, complete darkness) throughout the duration of the test. Prey were observed under a stereomicroscope every hour for signs of predation and the test ended as soon as predation was detected. The first prey attacked was considered as a choice.

### *In vivo* assessment of *S. scimitus* predation upon bee brood

An in-hive predation experiment was also conducted in an apiary of the CRSAD (46°47'50.09"N, 71°43'42.50"O) on colonies of equivalent strength and having sister queens of known descent. Each colony

was housed in a Langstroth commercial hive consisting of a single brood chamber (10 frames) supporting two or three honey supers over a queen excluder. On August 9, 2017, honey bee colonies were randomly assigned to two groups with five colonies per treatment: Group 1) colonies inoculated with *S. scimitus*, and Group 2) untreated colonies (control). For each colony, the queen was caged on a frame with empty combs for 48h and allowed to lay eggs as described in Human et al. [47]. Then, each queen was removed from the exclusion cage and reintroduced in its colony. The position of every comb cell containing an egg was marked using a permanent marker on a transparent sheet of acetate placed on each side of the frame. Each frame was placed back to the exclusion cage to prevent further oviposition by the queen and was replaced in the middle of the brood chamber. Colonies were then inoculated by sprinkling 500 ml of the biocontrol medium containing approximately 12,500 *S. scimitus* individuals (Group 1) or the same amount of pre-autoclaved vermiculite (Group 2) on top of the queen excluder.

Six days later, brood cells of each frame were observed for a second time by checking with previous acetates if the larvae (L4-L5) were present. Cells with a missing larva were marked with a permanent marker of another color before the combs were returned to the hives. This was repeated four days later (capped pupa). At each period, cells with brood were counted in order to determine the percentage of eggs and larvae that survived until cell capping. Hive floor and frames were also checked regularly to ensure that the predatory mites remained in the hives.

### *S. scimitus* predation of phoretic varroa mites

The experiment was conducted in the laboratory at two distinct periods, each one included half of the replicates. The first part of the trials started on July 10, 2017, while the other one started on August 9, 2017. Modified plastic pill bottles (34 mm diameter; 63 mm high) served as experimental arenas in which a hole was cut in the lid and was then covered with a glued piece of Nitex® synthetic nylon screening (105 µm). A hole was cut in the lowest quarter of each bottle allowing for the insertion of a 0.5 ml Eppendorf tube pierced with three small holes and serving as a bee feeder. Paraffin film was used to ensure tightness. Bottles were filled with 5 ml of pre-autoclaved vermiculite moistened with 2 ml of tap water. In a completely randomized design, twenty starved adult female *S. scimitus* were transferred to each treated arena (n=40) whereas control arenas (n=40) received no predators.

Using a fine paintbrush, one freshly collected adult female varroa mite was transferred to the body of each adult worker bee used in this trial. Then, a parasitized bee was introduced in each arena and was fed daily with a 50% (w/v) sucrose solution (Fig 5b). Arenas were held in a growth chamber (30°C, 75% RH, complete darkness) throughout the duration of the test. Once a day, honey bees and varroa mites were observed and recorded as dead or alive. If the honey bee was dead but the varroa was still alive, the bee was changed by a

new one and the varroa was transferred back on its body. For each arena, observations ended as soon as the varroa was recorded dead and the latter was then observed under a stereomicroscope for evidence of predation. Here again, a count of living and dead predatory mites was done at the end of the test to ensure that a reasonable amount of living predators was still in the treated arenas.

## Data analyses

Descriptive statistics of *in vitro* *S. scimitus* predation upon varroa mites and bee brood are given as proportions  $\pm$  95% confidence intervals. True difference between predation choices was investigated using a binomial two-sample test of proportions, using the R software (R Core Team 2016). Data of the *in vivo* predation test were analyzed using the proc mixed procedure in SAS® University Edition (version 9.4 M4). The normality of residuals was achieved, so a repeated measures analysis of variance (ANOVA) with autoregressive correlation structure was performed to compare differences of brood survival (number of eggs and surviving larvae and pupae) due to treatment, brood stage (post-oviposition time) and their interaction. Results are presented as percentages of brood survival (number of surviving larvae or pupae  $\times$  100 / initial number of eggs). Regarding *S. scimitus* predation assessment of phoretic varroa mites, a log-rank Kaplan-Meier survival analysis was carried out to compare the survival curves of the varroa in the presence or the absence of the predatory mite (survival package in R). Varroa death events that occurred on the same day as their respective bee death were considered as right censored data. Significance was defined as  $p < 0.05$  for all analyses.

## Results

### *In vitro* assessment of *S. scimitus* predation upon *V. destructor* and bee brood

Predation occurred on all types of prey offered to *S. scimitus* (Fig 6). Only the prey with obvious signs of predation were recorded as having been predated upon (Table 3). This includes live observations of predation or attack, eggs fully consumed, liquefied larvae and varroa mites with obvious missing appendages and damaged cuticle. Obvious predation events (stylet inserted into the body of the prey) were observed in real time at least twice for each type of prey (Fig 7). At the end of the experiment, an average of  $15 \pm 3$  (mean  $\pm$  SD) predatory mites were still alive in each arena.

### Prey preference test

When both prey were offered simultaneously, *S. scimitus* individuals first predated upon the bee egg ( $n=28$ ) over the varroa mite ( $n=2$ ) significantly more often (Fig 8; binomial test,  $n=30$ ,  $p < 0.001$ ). In most cases ( $25/28$ ), the bee egg was consumed during the first hour while the predation upon the varroa only occurred after

4 or 5 hours (Table 4). In this last scenario, the bee egg remained untouched while the varroa was dead and showed evident signs of predation (multiple missing appendages). Predation of both prey never occurred during the same one-hour observation interval.

### *In vivo* assessment of *S. scimitus* predation upon bee brood

Two colonies in the control group were rejected from the analysis due to abnormally low brood survival (0 and 23%) between the first two periods of data collection (i.e. before reaching the L4-L5 larval stage). On average,  $1800 \pm 111$  (mean  $\pm$  SE) eggs were marked in each colony and monitored over time. The initial number of eggs did not differ between groups (two sample  $t(6) = 0.103$ ,  $p = 0.922$ ). The repeated measures ANOVA revealed no interaction between treatment and time ( $F_{(2, 12)} = 0.05$ ,  $p = 0.956$ ) and there was no significant effect of the treatment ( $F_{(1,6)} = 0.03$ ,  $p = 0.864$ ) on the bee brood survival. Only the time had an effect on the brood survival ( $F_{(2, 12)} = 21.92$ ,  $p < 0.001$ ) with an average survival (mean  $\pm$  SE) of  $79.7 \pm 8.3\%$  and  $80.9 \pm 4.9\%$  of the L4-L5 larvae and  $76.3 \pm 8.2\%$  and  $76.3 \pm 4.4\%$  of the pupae for the control and the treated colonies respectively (Fig 9).

### *S. scimitus* predation of phoretic varroa mites

Some *S. scimitus* individuals escaped and were found in two control arenas which were rejected. The log-rank Kaplan-Meier survival test showed a significantly lower survival rate of varroa mites when *S. scimitus* was present (Fig 10;  $p < 0.01$ ). Mortality of 90% of phoretic varroa in treated and control arenas occurred after ten days and eight days respectively. Although no varroa mite survived longer than nine days in the presence of the biocontrol agent, the last surviving varroa mite of the control group was voluntarily killed after 14 days of survival (right censoring). Within the treated group, all varroa mites that were found dead showed signs of predation (missing legs or mouthparts, holes in the cuticle, etc.). An average of  $9 \pm 4$  (mean  $\pm$  SD) predatory mites were still alive in each treated arena at the end of the test.

## Discussion

Our experiment indicates that, under controlled conditions, *S. scimitus* attacks and feeds upon varroa mites when no other food choice is given. Despite the relatively smaller size of *S. scimitus* compared to the varroa (Fig 7), the predator still succeeded in killing them. This is not surprising considering that *S. scimitus*, like the other mites of the family Laelapidae, is an aggressive edaphic predator [48]. Typically, varroa mites that had been attacked by *S. scimitus* showed many missing legs and large holes in their cuticle. This is typical of the attack of many mesostigmatan mites that strive at the leg joint of large arthropods until the hemolymph flows [48]. In the experimental arenas, the predators were constantly on the move, searching for prey. However, as

they are used to live in the soil, they were mainly active and searching in the vermiculite at the bottom of the vial, climbing the walls only from time to time. On the opposite, most of the time the varroa remained hidden on the piece of Nitex® cloth that served as a cover. This could explain why half of the predation events occurred only after 12 hours despite the small size of the arena and the relatively high number of starved predators it contains. We observed some group attack events, but attacks by a single mite were also common. During a group attack, the varroa mite was first found and targeted by a single *S. scimitus* individual before being rapidly surrounded by others and assailed with quick jabs with the chelicerae. Then, the varroa was drained of its fluids and the empty cuticle was left behind.

Under these same restrictive laboratory conditions, *S. scimitus* was able to feed upon every honey bee developmental stages from egg to pupa. This goes against our predictions, which were based on the facts that predation of sciarid eggs and pupae by *S. scimitus* rarely occurs as the predatory mite is thought to prefer mobile stages and smaller prey [34, 49]. In fact, the 4th instar larvae of the sciarid flies are not always attacked by *S. scimitus* because they are presumably too large (up to 7 times the size of the adult mite), as postulated by Wright and Chambers [34]. These are similar in size and weight to the honey bee 2nd or 3rd larval instar [47, 50], which in the present case were repeatedly attacked. All bee eggs were completely consumed by *S. scimitus* while the larvae were almost exclusively attacked at their body ends (head or anus). Some pupae were also attacked despite being protected by a sealed wax cell. However, we do not know whether these cells had been previously damaged during their sampling or if the predators made their way through the wax by themselves. Group feeding was the norm for all types of prey. Usually, the prey was initially attacked by a single mite before others joined it and began to feed. Here, chemical cues could be involved [34].

In hindsight, our results are not so surprising if we consider the specific and highly restrictive conditions of our test. In fact, a single prey was given to multiple highly polyphagous predators that had been starved for 48 hours, without alternative food sources. These conditions were put in place specifically to ensure that any potential predation by the predator would be detected, even though these are unrealistic of in-hive conditions. The biggest difference between the conditions of both environments was the accessibility of prey. Within the bee colony, eggs and larvae are found in cells and are cared for and protected by worker bees. On the opposite, in our experiment, the brood was unprotected and offered to the predatory mites in a restricted environment so that their presence was easily detectable. Thus, these results should be taken with caution as predation tests conducted in the colony prove to be more realistic and revealing of the predation behaviour of *S. scimitus* and the non-target effects that might ensue.

When a choice is given under controlled conditions, *S. scimitus* first predated upon the unprotected honey bee egg over the free varroa mite. Since these two prey were the most consumed in the previous trial, it



was relevant to assess the predator's preference when both prey are present, as this is the case in a bee colony. In many cases, even if a prey has been contacted by a predator, the decision to attack may be influenced by the assessment of relative risks and costs compared with the nutritional benefits brought by the prey at hand [51]. Here, the smaller size of the bee egg and its soft body certainly make it easier for *S. scimitus* to attack compared with the varroa. The varroa ability to flee the predator also plays a role. Indeed, this escape behaviour might explain why the time elapsed before the predation event was much longer when the varroa was predated first than when the bee egg was (Table 4).

Of course, our results also suggest that the varroa mite may not be a prey of choice for *S. scimitus* in a context of food variety (i.e. inside the hive). In addition to bee eggs, there are plenty of other small prey within a honey bee hive that may be more attractive for *S. scimitus* than varroa mites, such as pollen-feeding mites and other small insects [5, 52]. This is a problem often encountered with the use of generalist predators in biological control, which can limit the success of pest control. In fact, due to their lack of prey specificity, generalist predators may not respond to pest populations in a density-dependent way if feeding on alternative or preferred prey [51, 53]. An advantage of generalist predators, however, is that they can persist in a system even when the pest is no longer present [53]. For instance, this could occur after the varroa mite population decreases following the release of the biocontrol agent or when varroa mites are reproducing inside the brood cells. In this case, the presence of in-hive alternative prey should favor the survival of *S. scimitus* and even improve its reproduction and development by supplying additional food. Competition, or other interactions, between the various potential prey of *S. scimitus* should be studied in more detail if this predator is to be used for varroa mite control. Assays should also be conducted to examine whether varroa mites alone provide adequate nutrients to allow reproduction of *S. scimitus*.

Interestingly, when introduced inside colonies, *S. scimitus* does not have negative effects on the survival of the honey bee brood. This suggests that the predatory mite does not feed upon the bee brood inside the colony. Here, there are two possible explanations. First, the position of the brood into the hive (i.e. in brood cells at the center of the colony) and the protection provided by the worker bees may be sufficient to prevent the predator from attacking the brood. Indeed, the ecology of *S. scimitus* leads us to believe that the predator rather tends to search for prey at the bottom of the hive than at the center of the bee cluster. Observations made in the colonies three days after the introduction of the predator seem to confirm this behaviour since several predators were found at the bottom of the hive while very few were observed walking on the brood frames. Unfortunately, this behaviour may also limit the predator's ability to attack varroa mites within colonies, as the adult parasites are mainly phoretic or in the brood cells. We know that *S. scimitus* remained in the colony for at least ten days, since we observed its presence in the debris at the bottom of the hive and confirmed it under magnification. Moreover, the invasion of a brood cell by *S. scimitus* is likely to result in the removal of the mite by worker bees

during routine maintenance duties, preventing the brood from being predated [28]. A second explanation for the absence of bee brood predation in the colony would be the presence of other food sources. During our observations, we collected debris in the bottoms of hives for screening purposes. In addition to varroa mites, we recorded the presence of various species of mites and spiders, springtails, ants, nitidulid beetles and wax moth larvae. There were also plenty of mold mites (presumably *Tyrophagus putrescentiae*) which were most likely introduced with the biocontrol agent since they are supplied as food with the predatory mite during the transit and in storage. Thereby, the presence of multiple alternative food sources might prevent non-target effects on the bee brood, thus reducing the efficiency of *S. scimitus* to target the varroa.

Assessing the risk of honey bee brood predation by *S. scimitus* is a step that should be taken seriously, considering the deleterious impacts that this predation could have on the strength and the survival of the colony. Based on previous observations conducted in Canada, biocontrol suppliers currently suggest using 150 to 200 ml of the *S. scimitus* mixture for varroa control [42, 43]. In our trial, we used 500 ml of this mixture (12,500 individuals) and considering the voracity of the predator, we think this must be enough to detect a predation effect if there is any. Our results correspond to those obtained using observation hives, which reinforce the reliability of our findings (Appendix 2). In these undescribed tests, we introduced hundreds of starved *S. scimitus* individuals in observation hives containing a single frame of brood and we observed their behaviour for several hours, using a red light in the dark. When worker bees were absent, most of the mites remained in the vermiculite poured on top of the frame but some of them occasionally walked on the comb. Some mites were observed entering brood cells containing a bee egg but predation was rarely observed. Moreover, when worker bees were present in the observation hives, the mites did not climb on the frames at all and no brood predation was observed. In addition to corroborating the absence of significant predation risk of the bee brood by *S. scimitus* within colonies, these observations also support the role of worker bees in brood protection.

Observations made in laboratory revealed that *S. scimitus* individuals do not attack varroa mites when they are attached to the body of bees. Indeed, even when the predatory mites were deposited carefully with a small paint brush on the body of an adult worker bee, these did not adhere to the insect body and fell to the slightest bee movement. Moreover, *S. scimitus* has never been recorded to be phoretic, as most of the lealapid mites [54]. Even if the predatory mite is known to be able to feed upon phoretic hematophagous mites in infested birds and lizards [41, 46], it seems that it only attacks the parasites when they are off their host body [40].

Since the biocontrol agent under study is not able to attack phoretic varroa mites, it is unlikely that it will be effective enough to be used alone in varroa control. When ready to reproduce, the female varroa mite leaves its honey bee host to invade a worker cell approximately 20h before its capping [55] and the entire reproductive cycle takes place into that cell. Thus, the effective period for *S. scimitus* to enter into the brood cell

in tandem with the varroa is short, which makes it unlikely that the predator will impact significantly neither on reproductive adult varroa mites nor on varroa eggs or larvae [28]. After this period of time, reproductive varroa mites are blocked by the brood cell cap and only the phoretic parasites remain accessible to *S. scimitus*. Thereby, to be at least partially effective, the biocontrol agent must be able to search bee bodies for adult varroa mites and attack them. Likewise, most of the chemicals used in varroa control only kill the phoretic mites, except for formic acid which effectively kills varroa mites in sealed brood cells [56].

In our trial, however, all varroa mites that had fallen from their bee host body were predated upon by *S. scimitus* and died in less than 24h. It strongly suggests that *S. scimitus* only predate upon varroa mites that naturally fell from the bees. In fact, a certain percentage of mites in a colony simply lose their grip and fall to the bottom of the hive over time. Moreover, in order to avoid parasitism by *V. destructor*, honey bees often exhibit defensive behaviours such as “grooming” which involves self-removal of phoretic varroa mites on the body of adult bees [57]. When effective, this behaviour leads to the removal of the parasite which is more likely to fall on the hive floor. In our experiment, the reduced probability of survival recorded for the phoretic varroa mites from the treated group is due to the fact that the varroa were instantly attacked by *S. scimitus* after a natural fall from their host body. In the control group, fallen varroa mites survived longer and even had a chance to return on their host body.

The use of the predatory mite could potentially be combined with other existing methods of varroa control in a context of integrated pest management. We demonstrated that instead of attacking phoretic varroa mites, *S. scimitus* is more likely to predate upon the mites that fall on the bottom of the hive. In doing so, the biocontrol agent could have a similar effect to that of screen bottom boards or could even increase their effectiveness. We know that about 50% of the varroa are still alive and very active when they fall on the hive floor [58]. Thereby, screen bottom boards that allow varroa to fall through it are often used to prevent the living fallen mites from returning to the colony. Even if not reliable as a single control technique, the use of these screen boards could reduce about 20% of the mite population over the season and increase the degree of varroa control obtained with soft chemicals and other cultural practices [27, 59, 60]. When placed on the bottom boards, sticky sheets help to immobilize the mites [58] and increase the number of trapped mites that latter die from starvation. Commercial sticky sheets are expensive, so beekeepers often use homemade corrugated plastic sheets covered with vegetable shortening. Preparing and using these sheets is labor intensive, which makes them inconvenient for most commercial beekeepers. Introducing *S. scimitus* in hives at key moments during the summer could provide a cheaper and more convenient alternative. As the varroa can survive up to 70 hours off its host [5], rapid predation of the fallen parasites by *S. scimitus* surely can help to delay damaging varroa levels and should be exploited for control purposes.

In a recent study [42], Rangel and Ward showed, using *in vitro* assays, the capacity of *S. scimitus* in attacking free varroa mites but they raised questions regarding the overall ability of the predator and whether it could prey on honey bee brood. Here, not only did we bring answers to several of their questions but we provided additional, crucial information on *S. scimitus* as a potential biocontrol agent of varroa mites. For instance, by using more realistic conditions under which we conducted our *in vitro* predation tests (34°C; 70% RH vs 29.5°C; uncontrolled humidity in [42]), we showed that *S. scimitus* can survive and be active within the range of temperature and humidity conditions of a honey bee colony [61]. Since free varroa mites are uncommon in the hive, our study also provides a better understanding of the predation potential of *S. scimitus* on varroa mites under more realistic conditions.

In summary, our study provides evidence that *S. scimitus* does not represent a threat to the honey bee brood but suggests that its effect in varroa control will probably be limited as it does not attack phoretic varroa mites. Our results represent an important step in assessing the potential of *S. scimitus* to control *V. destructor* and provide novel information about the behaviour of the predator inside the honey bee colony. Nevertheless, the actual efficacy of the predatory mite to control varroa populations in honey bee colonies still needs to be investigated in greater depth. Further work must also include assessments of the predator's ability to reproduce and maintain its population into the colony. As *S. scimitus* is highly polyphagous, assessing the predator's ability to control other honey bee pests found on the hive floor, such as wax moth and small hive beetle larvae, should also be considered.

## Acknowledgments

We are indebted to the Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) for their generous in-kind contribution and unfailing support. Special thanks are extended to Georges Martin, Martine Bernier, Michael Benoit, Marilène Paillard, Hassina Yacini and all the beekeeping CRSAD team for their assistance throughout the project. We are also thankful to : Anne Leboeuf and Yvan L'Homme (Rucher des Basses Terres) for giving us access to colonies for bee brood collection; to Brian and Adam Spencer (Applied Bio-nomics Ltd) for their in-kind supplies of *Stratiolaelaps scimitus*; Oliver Samson-Robert for his precious advice during the early development of protocols; and all the summer students and professionals who worked on the project (Lucie Alexandre, Thaïs Andro, Aurélie Boilard, Audrey Boivin, Andréa Duclos, Guillaume Guengard, and Clémence Landreau). Finally, we would like to thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT), the Canadian Federation of University Women (CFUW), the Quebec Center for Biodiversity Science (QCBS), and the Centre SÈVE for providing S. Rondeau with various scholarships.

## References

1. Diemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson DL, Locke B, Delaplane KS, et al. Standard methods for varroa research. *J Apic Res.* 2013;52(1):1-54. doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.09.
2. Nazzi F, Le Conte Y. Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. In: Berenbaum MR, editor. *Annual Review of Entomology*, Vol 61. *Annual Review of Entomology*; 2016. p. 417-432. doi: 10.1146/annurev-ento-010715-023731.
3. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol.* 2010;103 Suppl 1: S96-119. doi: 10.1016/j.jip.2009.07.016.
4. Emsen B, Guzman-Novoa E, Kelly PG. Honey production of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with high and low *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation rates in eastern Canada. *Can Entomol.* 2014;146(2): 236-240. doi: 10.4039/tce.2013.68.
5. Sammataro D, Gerson U, Needham G. Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annu Rev Entomol.* 2000;45: 519-548. doi: 10.1146/annurev.ento.45.1.519.
6. Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. Predictive Markers of Honey Bee Colony Collapse. *Plos One.* 2012;7(2): e32151. doi:10.1371/journal.pone.0032151.
7. vanEngelsdorp D, Meixner MD. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J Invertebr Pathol.* 2010;103: S80-S95. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.011.
8. Desai SD, Currie RW. Effects of Wintering Environment and Parasite-Pathogen Interactions on Honey Bee Colony Loss in North Temperate Regions. *Plos One.* 2016;11(7): e0159615. doi: 10.1371/journal.pone.0159615.
9. Koleoglu G, Goodwin PH, Reyes-Quintana M, Hamiduzzaman MM, Guzman-Novoa E. Effect of *Varroa destructor*, Wounding and Varroa Homogenate on Gene Expression in Brood and Adult Honey Bees. *Plos One.* 2017;12(1): e0169669. doi:10.1371/journal.pone.0169669.
10. McMenamin AJ, Genersch E. Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science.* 2015;8: 121-129. doi: 10.1016/j.cois.2015.01.015.
11. Nazzi F, Brown SP, Annoscia D, Del Piccolo F, Di Prisco G, Varricchio P, et al. Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Path.* 2012;8(6): e1002735. doi:10.1371/journal.ppat.1002735.
12. Bowen-Walker PL, Martin SJ, Gunn A. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *J Invertebr Pathol.* 1999;73(1): 101-106. doi: 10.1006/jipa.1998.4807.
13. Le Conte Y, Ellis M, Ritter W. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie.* 2010;41(3): 353-363. doi: 10.1051/apido/2010017.
14. Cabras P, Floris I, Garau VL, Melis M, Prota R. Fluvalinate content of Apistan(R) strips during treatment and efficacy in colonies containing sealed worker brood. *Apidologie.* 1997;28(2): 91-96. doi: 10.1051/apido:19970206.

15. Milani N. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie*. 1999;30(2-3): 229-34. doi: 10.1051/apido:19990211.
16. Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie*. 2000;31(3): 437-441. doi: 10.1051/apido:2000134.
17. Maggi MD, Ruffinengo SR, Damiani N, Sardella NH, Eguaras MJ. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Exp Appl Acarol*. 2009;47(4): 317-320. doi: 10.1007/s10493-008-9216-0.
18. Giovenazzo P, Dubreuil P. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Exp Appl Acarol*. 2011;55(1): 65-76. doi: 10.1007/s10493-011-9447-3.
19. Gregorc A, Smodis Skerl MI. Toxicological and immunohistochemical testing of honeybees after oxalic acid and rotenone treatments. *Apidologie*. 2007;38(3): 296-305. doi: 10.1051/apido:2007014.
20. Schneider S, Eisenhardt D, Rademacher E. Sublethal effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): changes in behaviour and longevity. *Apidologie*. 2012;43(2): 218-225. doi: 10.1007/s13592-011-0102-0.
21. Vandervalk LP, Nasr ME, Dosdall LM. New Miticides for Integrated Pest Management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Honey Bee Colonies on the Canadian Prairies. *J Econ Entomol*. 2014;107(6): 2030-2036. doi: 10.1603/ec14048.
22. Alayrangues J, Hotier L, Massou I, Bertrand Y, Armengaud C. Prolonged effects of in-hive monoterpenoids on the honey bee *Apis mellifera*. *Ecotoxicology*. 2016;25(5): 856-862. doi: 10.1007/s10646-016-1642-x.
23. Bonvehi JS, Coll FV, Martinez JAR. Residues of essential oils in honey after treatments to control *Varroa destructor*. *J Essent Oil Res*. 2016;28(1): 22-28. doi: 10.1080/10412905.2015.1076741.
24. Floris I, Satta A, Cabras P, Garau VL, Angioni A. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: Effectiveness, persistence, and residues. *J Econ Entomol*. 2004;97(2): 187-191. doi: 10.1603/0022-0493-97.2.187.
25. Al Naggar Y, Tan Y, Rutherford C, Connor W, Griebel P, Giesy JP, et al. Effects of treatments with Apivar® and Thymovar® on *V-destructor* populations, virus infections and indoor winter survival of Canadian honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J Apic Res*. 2015;54(5): 548-554. doi: 10.1080/00218839.2016.1186917.
26. The Honey Bee Health Coalition. Tools for Varroa Management: A Guide to Effective Varroa Sampling & Control. Honey Bee Health Coalition; 2017. p. 1-25. Available from: <https://honeybeehealthcoalition.org/varroa/>.
27. Delaplane KS, Berry JA, Skinner JA, Parkman JP, Hood WM. Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *J Apic Res*. 2005;44(4): 157-162. doi: 10.1080/00218839.2005.11101171.

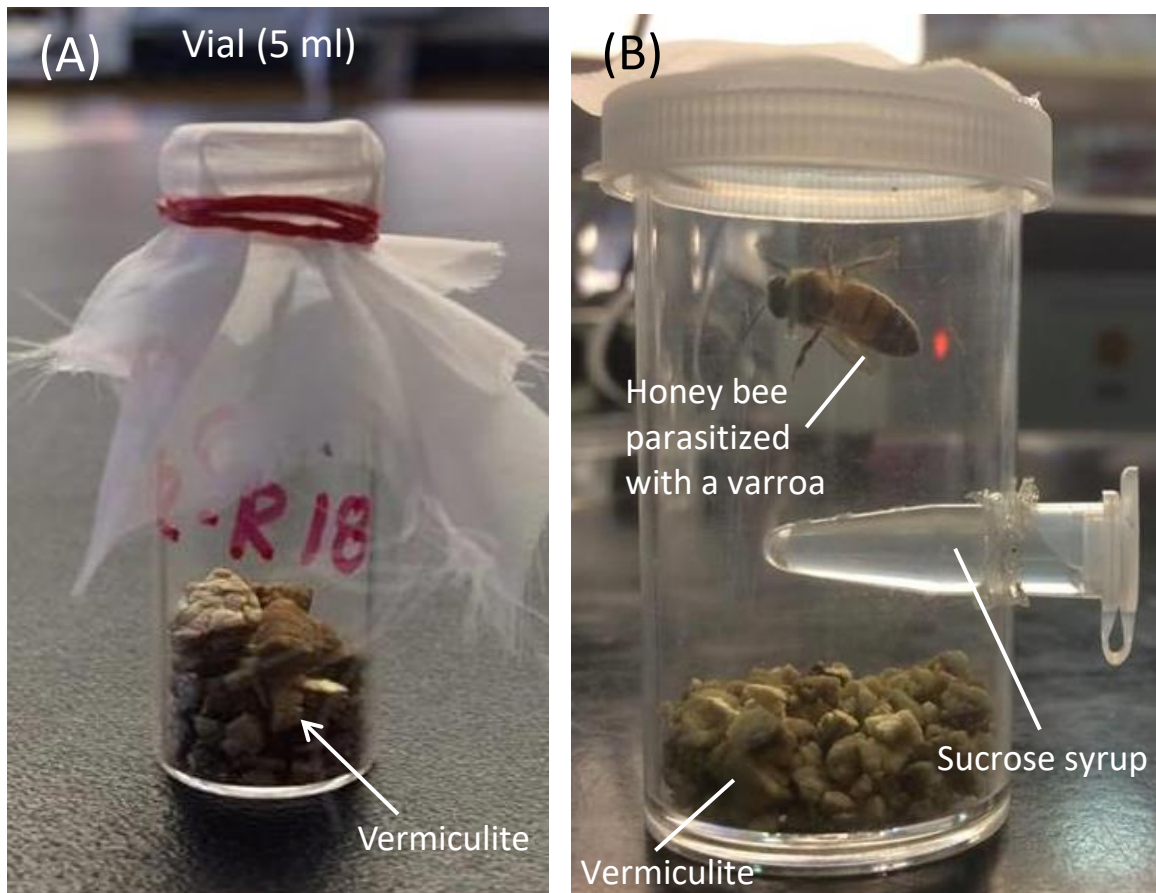
28. Chandler D, Sunderland KD, Ball BV, Davidson G. Prospective biological control agents of *Varroa destructor* n. sp., an important pest of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Biocontrol Sci Technol*. 2001;11(4): 429-448. doi: 10.1080/09583150120067472.
29. Pernal SF, Clay H. *Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique*, 3e édition (version française). 3ième ed. Beaverlodge (Alberta): Association canadienne des professionnels de l'apiculture (ACPA); 2015.
30. Walter DE, Campbell NJH. Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari : Mesostigmata : Laelapidae), please stand up? *Biol Control*. 2003;26(3): 253-269. doi: 10.1016/s1049-9644(02)00171-8.
31. Hoy MA. *Agricultural acarology introduction to integrated mite management*. Boca Raton: CRC Press; 2011.
32. Cabrera AR, Cloyd RA, Zaborski ER. Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari : Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera : Sciaridae), potworms (Oligochaeta : Enchytraeidae) or *Sancassania aff. sphaerogaster* (Acari : Acaridae) as the sole food source. *Exp Appl Acarol*. 2005;36(1-2): 71-81. doi: 10.1007/s10493-005-0242-x.
33. Navarro-Campos C, Wackers FL, Pekas A. Impact of factitious foods and prey on the oviposition of the predatory mites *Gaeolaelaps aculeifer* and *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae). *Exp Appl Acarol*. 2016;70(1): 69-78. doi: 10.1007/s10493-016-0061-2.
34. Wright EM, Chambers RJ. The biology of the predatory mite *Hypoaspis miles* (Acari: Laelapidae), a potential biological control agent of *Bradysia paupera* (Dipt.: Sciaridae). *Entomophaga*. 1994;39(2): 225-235. doi: 10.1007/bf02372360.
35. Chambers RJ, Wright EM, Lind RJ. Biological control of glasshouse sciarid flies (*Bradysia* spp.) with the predatory mite, *Hypoaspis miles*, on cyclamen and poinsettia. *Biocontrol Sci Technol*. 1993;3(3): 285-293. doi: 10.1080/09583159309355283.
36. Castilho RC, de Moraes GJ, Silva ES, Freire RAP, Da Eira FC. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Int J Pest Manage*. 2009;55(3): 181-185. doi: 10.1080/09670870902725783.
37. Wu S, Gao Y, Xu X, Wang E, Wang Y, Lei Z. Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* and *Neoseiulus barkeri* for biological control of thrips on greenhouse cucumbers. *Biocontrol Sci Technol*. 2014;24(10): 1110-1121. doi: 10.1080/09583157.2014.924478.
38. Wu S, Zhang Z, Gao Y, Xu X, Lei Z. Interactions between foliage- and soil-dwelling predatory mites and consequences for biological control of *Frankliniella occidentalis*. *BioControl*. 2016;61(6): 717-727. doi: 10.1007/s10526-016-9762-z.
39. Berndt O, Meyhofer R, Poehling HM. The edaphic phase in the ontogenesis of *Frankliniella occidentalis* and comparison of *Hypoaspis miles* and *Hypoaspis aculeifer* as predators of soil-dwelling thrips stages. *Biol Control*. 2004;30(1): 17-24. doi: 10.1016/j.biocontrol.2003.09.009.

40. Lesna I, Sabelis MW, van Niekerk TGCM, Komdeur J. Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small 'laying hen' cages. *Exp Appl Acarol.* 2012;58(4): 371-383. doi: 10.1007/s10493-012-9596-z.
41. Mendyk RW. Preliminary Notes on the Use of the Predatory Soil Mite *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) as a Biological Control Agent for Acariasis in Lizards. *J. Herpetol. Med. Surg.* 2015;25(1-2): 24-27. doi: 10.5818/1529-9651-25.1.24.
42. Rangel J, Ward L. Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *J Apic Res.* 2018;57(3): 425-432. doi: 10.1080/00218839.2018.1457864.
43. The Niagara Beeway [Internet]. Niagara: The Niagara Beeway; c2018 [cited 2018 Apr 17]. Varroa Mite 2014 Report. Available from: <http://www.niagarabeeway.com/varroa-mite.html>.
44. Jacques A, Laurent M, Ribiere-Chabert M, Saussac M, Bougeard S, Budge GE, et al. A pan-European epidemiological study reveals honey bee colony survival depends on beekeeper education and disease control. *Plos One.* 2017;12(3): e0172591. doi: 10.1371/journal.pone.0172591.
45. Boot WJ, Calis JNM, Beetsma J. Invasion of *Varroa jacobsoni* into honey bee brood cells - a matter of chance or choice. *J Apic Res.* 1993;32(3-4): 167-174. doi: 10.1080/00218839.1993.11101302.
46. Ali W, George DR, Shiel RS, Sparagano OAE, Guy JH. Laboratory screening of potential predators of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and assessment of *Hypoaspis miles* performance under varying biotic and abiotic conditions. *Vet Parasitol.* 2012;187(1-2): 341-344. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.01.014.
47. Human H, Brodschneider R, Dietemann V, Dively G, Ellis JD, Forsgren E, et al. Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *J Apic Res.* 2013;52(4): 1-53. doi: 10.3896/IBRA.1.52.4.10.
48. Walter DE, Proctor HC. *Mites ecology, evolution & behaviour : life at a microscale.* Dordrecht: Springer; 2013.
49. Berndt O, Poehling HM, Meyhofer R. Predation capacity of two predatory laelapid mites on soil-dwelling thrips stages. *Entomol Exp Appl.* 2004;112(2): 107-115. doi: 10.1111/j.0013-8703.2004.00185.x.
50. Berg MP. Mass-length and mass-volume relationships of larvae of *Bradysia paupera* (Diptera : Sciaridae) in laboratory cultures. *European Journal of Soil Biology.* 2000;36(3-4): 127-133. doi: 10.1016/s1164-5563(00)01055-4.
51. Van Driesche RG, Hoddle M, Center TD. *Control of pests and weeds by natural enemies: an introduction to biological control.* 1st ed. Malden, MA: Blackwell Pub; 2008.
52. De Jong D, Morse RA, Eickwort GC. Mite Pests of Honey Bees. *Annu Rev Entomol.* 1982;27: 229-252. doi: 10.1146/annurev.en.27.010182.001305.
53. Hajek AE. *Natural enemies : an introduction to biological control.* Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2004.

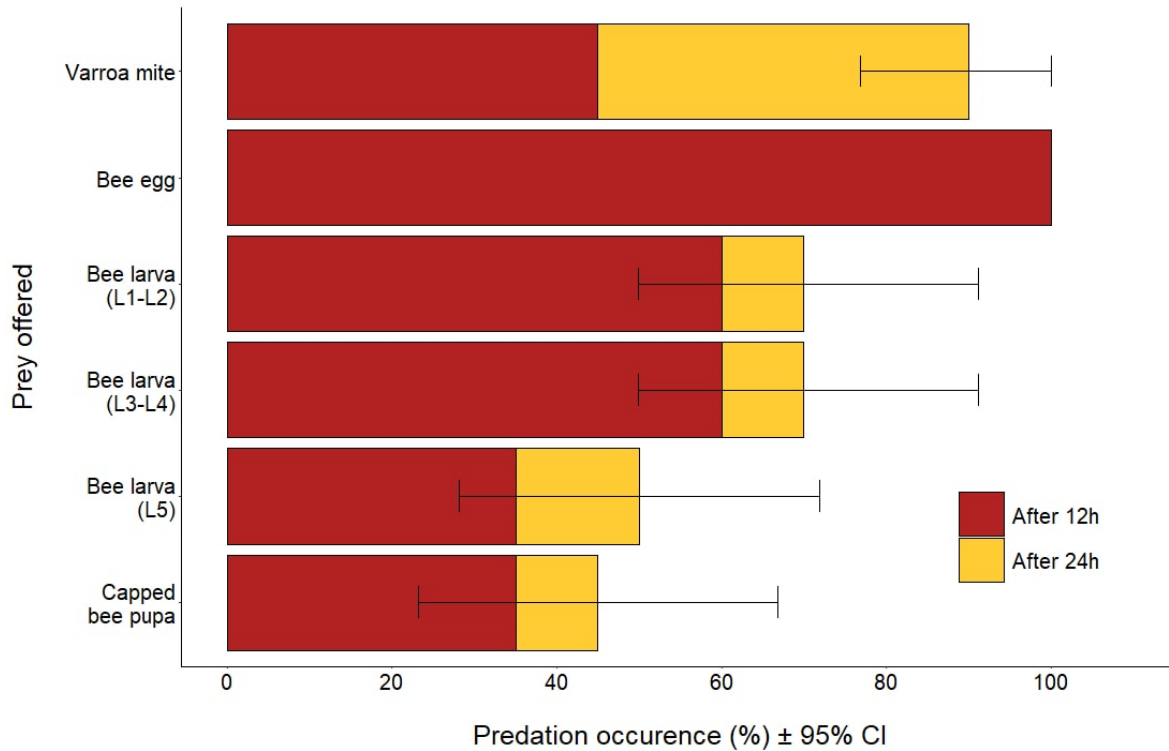


54. Berndt O, Meyhofer R, Poehling HM. Propensity towards cannibalism among *Hypoaspis aculeifer* and *H. miles*, two soil-dwelling predatory mite species. *Exp Appl Acarol.* 2003;31(1-2): 1-14. doi: 10.1023/b:appa.0000005108.72167.74.
55. Boot WJ, Calis JNM, Beetsma J. Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Exp Appl Acarol.* 1992;16(4): 295-301. doi: 10.1007/bf01218571.
56. Fries I. Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for control of *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee J.* 1991;131(5): 313-314.
57. Pritchard DJ. Grooming by honey bees as a component of varroa resistant behavior. *J Apic Res.* 2016;55(1): 38-48. doi: 10.1080/00218839.2016.1196016.
58. Webster TC, Thacker EM, Vorisek FE. Live *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata : Varroidae) fallen from honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies. *J Econ Entomol.* 2000;93(6): 1596-1601. doi: 10.1603/0022-0493-93.6.1596.
59. Harbo JR, Harris JW. Effect of screen floors on populations of honey bees and parasitic mites (*Varroa destructor*). *J Apic Res.* 2004;43(3): 114-117. doi: 10.1080/00218839.2004.11101120
60. Pettis JS, Shimanuki H. A hive modification to reduce varroa populations. *Am. Bee J.* 1999;139(6): 471-473.
61. Jones JC, Myerscough MR, Graham S, Oldroyd BP. Honey bee nest thermoregulation: Diversity promotes stability. *Science.* 2004;305(5682): 402-404. doi: 10.1126/science.1096340.

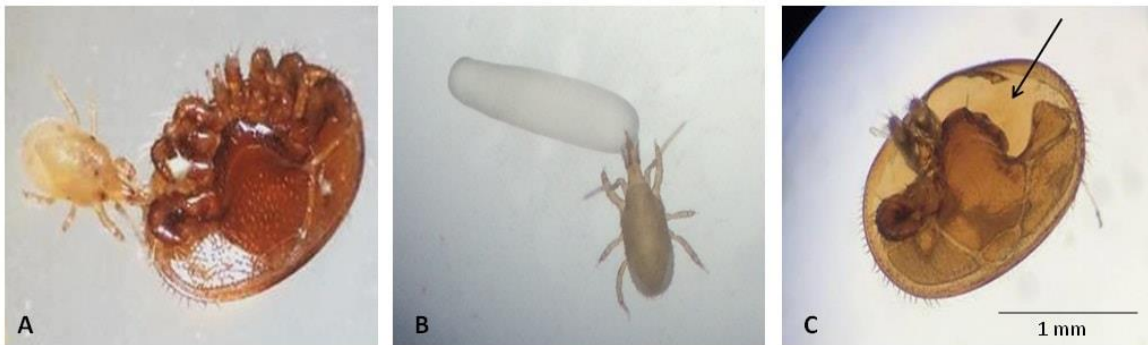
## Appendix 1. Tables and Figures.



**Figure 5. Experimental arenas used during: (A) the *in vitro* assessment of *S. scimitus* predation upon *V. destructor* and bee brood, and (B) the assessment of *S. scimitus* predation of phoretic varroa mites. Each arena hosted straved female predatory mites in the moistened vermiculite. Arenas (A) also contained one prey (bee brood or varroa mite) while arenas (B) hosted a parasitized honey bee worker. (Photos: Sabrina Rondeau, 2016 / 2017)**



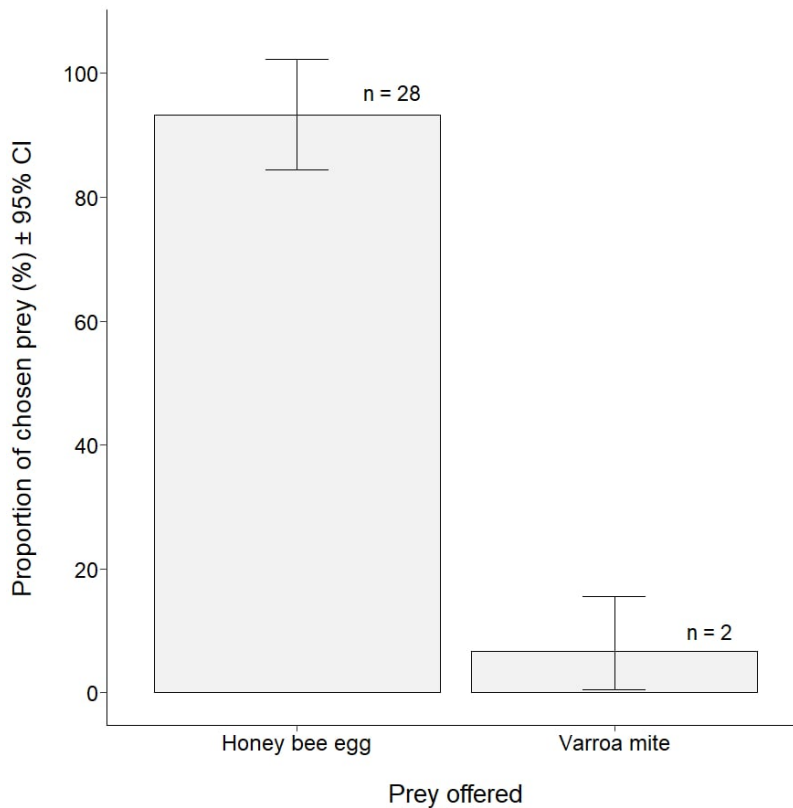
**Figure 6. Occurrence of predation of *Varroa destructor* (female adults) and five different honey bee brood stages by the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus*, after 12h and 24h of confinement in experimental arenas.** Each arena (n=20 per type of prey) contained 20 starved female predatory mites and a single prey. Error bars show the 95% confidence intervals after 24 hours.



**Figure 7. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* feeding on a female varroa mite (A) and a honey bee egg (B) under laboratory conditions.** After being attacked by *S. scimitus*, the varroa showed characteristic signs of predation (C) such as missing legs and holes in the cuticle (arrow). (Photos: Sabrina Rondeau, 2016)

**Table 3. Status of *Varroa destructor* (female adults) and five different honey bee brood stages after a maximum of 24h of confinement with *Stratiolaelaps scimitus* under laboratory conditions.** Each arena (n=20 per type of prey) contained 20 starved female predatory mites and a single prey.

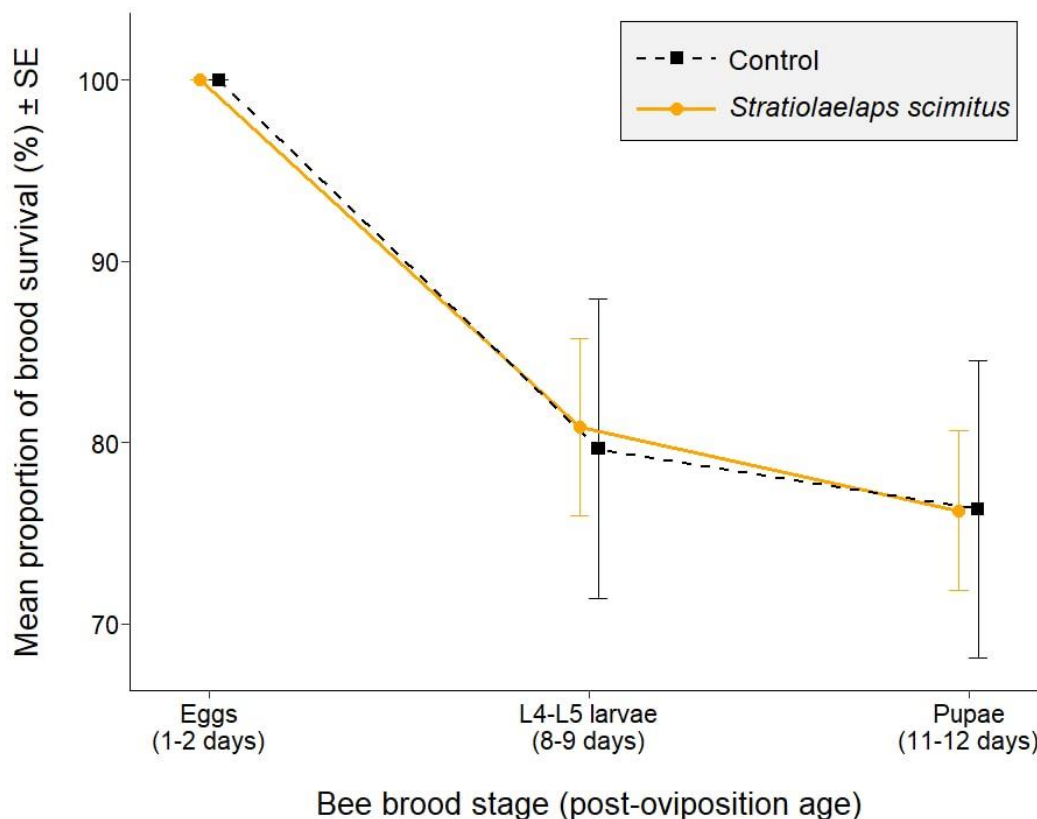
Prey /state	Number of observations (n)				
	Fully consumed	Alive with predation	Alive without predation	Dead with predation	Dead without predation
Varroa mite	0	1	0	17	2
Bee egg	20	0	0	0	0
Bee larva (L1-L2)	0	0	1	14	5
Bee larva (L3-L4)	0	0	4	14	2
Bee larva (L5)	0	2	10	8	0
Capped bee pupa	0	0	4	9	7



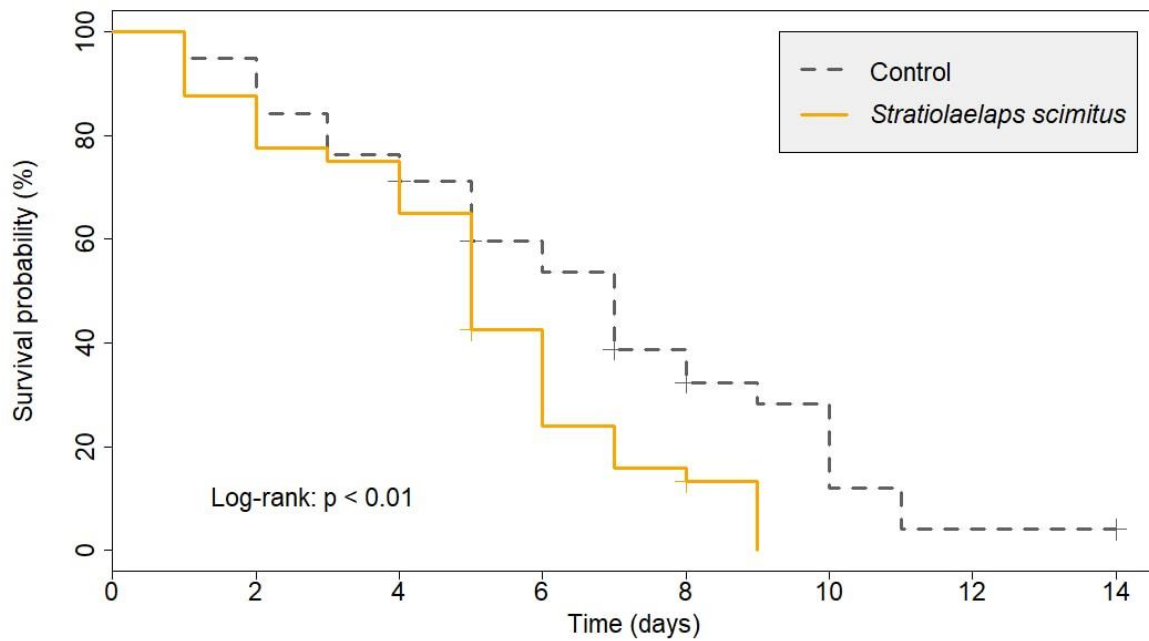
**Figure 8. Proportion of honey bee eggs and varroa mites first chosen by *Stratiolaelaps scimitus* during a preference test where both prey were offered simultaneously (n=30) to ten starved *S. scimitus* individuals.**

**Table 4. Number of predation events based on the first prey chosen by *Stratiolaelaps scimitus* during a preference test and the time (h) elapsed before the predation occurred.** Trials were conducted in experimental arenas (n=30) in which a honey bee egg and a varroa mite were offered simultaneously to ten starved *S. scimitus* individuals.

First prey chosen	Number of observations (n)	Time elapsed before the predation event (h)
Honey bee egg	25	1
Honey bee egg	1	2
Honey bee egg	1	3
Varroa mite	1	4
Varroa mite	1	5
Honey bee egg	1	5



**Figure 9. Effect of the inoculation of honey bee colonies (n=5) with  $\approx 12,500$  *Stratiolaelaps scimitus* individuals on the mean proportion of bee brood survival from the eggs to the pupae in comparison with untreated colonies (control; n=3).** On average,  $1800 \pm 111$  (mean  $\pm$  SE) eggs have been marked in each colony and monitored over time (August 9 to 21, 2017). There was no effect of the treatment on the bee brood survival (repeated measures ANOVA;  $F(1,6) = 0.03$ ,  $p = 0.864$ ).



**Figure 10. Kaplan-Meier survival curves of the phoretic varroa mites when confined in experimental arenas with 20 starved *Stratiolaelaps scimitus* individuals (n=40) or none (control; n=38).** Each arena consisted of a modified plastic pill bottle and contained one worker bee parasitized by a single varroa mite. Death events of both the varroa and the bee have been recorded once a day and varroa death events that occurred on the same day as their respective bee death were considered as right censored data.

## **Appendix 2. Additional monitoring of *S. scimitus* predation upon bee brood using observation hives.**

### **Methods**

In addition to the trial described for the “*in vivo* assessment of *S. scimitus* predation upon bee brood”, further observations were made using an observation hive. Those observations were made at three different periods of time in May and June 2017.

The same home-made wooden observation hive was used throughout the tests. Glass frames at both sides of the hive allowed observations of a single Langstroth-style deep frame. Two screened moisture vents were present, one at each narrow side of the hive.

Brood frames and honey bees were obtained from the livestock of the Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD), in Quebec (Canada).

The predatory mites *S. scimitus* were starved individually for 48h in small portion containers (Solo® cups; 1 oz) with a piece of moistened tissue paper prior to their transfer in the hive.

*May 2, 2017*

One frame of brood containing eggs, larvae and capped pupae and covered with worker bees was inserted in the observation hive. A thick layer of petroleum jelly (Vaseline®) was spread around air vents to prevent mite escape. The hive was placed in a dark, warm and humid room (28°C, 40% RH; complete darkness) throughout the test.

Approximately 600 starved predators were then transferred to 150 ml of pre-autoclaved moistened vermiculite and poured on top of the frame. Using headlamps with red light, observations were made in the dark for two hours following the introduction of the mites, and for four hours/day during the next three days (two hours each in the morning and in the afternoon). Observations were made by two observers, one for each side of the frame, for a total observation period of 28 hours. The behaviour of both the mites and the bees was monitored, including the movements of *S. scimitus* in the hive and on the frames, the attempts of brood predation by *S. scimitus* and the behaviour of bees toward predators.

*May 30, 2017*

One frame of brood containing mostly eggs was inserted in the observation hive without bees. Prior to observations, a total of 60 cells containing an egg were marked using a permanent marker on a transparent sheet of acetate placed on each side of the frame. Only freshly laid eggs (standing up in the cell) were marked. Approximately 1,000 starved mites were transferred to 75 ml of moistened vermiculite and poured on top of the frame. We used the same observation protocol as previously described. After two days, we checked with previous acetates if the eggs (or freshly hatched larvae) were still present. Cells with a missing egg were marked with a permanent marker of another color and the frame was returned to the hive. This time, the hive was kept in a growth chamber (32°C, 75°C, and complete darkness) between observation periods. Observations were made in the same room as previously described.

*June 14, 2017*

One frame of brood containing mostly eggs was inserted in the observation hive without bees. Approximately 1,500 starved mites were transferred to 75 ml of moistened vermiculite and poured on top of the frame. We used the same observation protocol as previously described, for the same period of time and in the same physical conditions.

## Results

*May 2, 2017*

Fifteen minutes following the introduction of the mites, almost all the vermiculite had fallen to the bottom of the hive due to bees' attempt to remove it. The predatory mites were active but stayed in the vermiculite at the bottom of the hive throughout our observations. Most of the time, when *S. scimitus* individuals undertook to climb on the frames or the walls of the hive, they fell back to the bottom due to the movements of bees. The same behaviour was recorded during the next three days. Bees, for their part, acted normally. They continued to take care of the brood (feed the larvae, cap the cells, ventilate) and did not seem bothered by the presence of the mites. Only 2 bees died over the observation period.

*May 30, 2017*

Mites stayed in the vermiculite on top of the frame, walking on the comb only occasionally and for a short period of time (< 10 minutes). We observed some mites getting into brood cells containing an egg, but the eggs were usually not attacked – at the opposite of our tests in lab. During our 28h observation period, we observed only one predation event of a bee egg by *S. scimitus*. Some mites were recorded drowned in honey.



After two days, only five of the sixty marked eggs were missing (8.3%). We don't know if those eggs had been predated or if they dried out.

*June 14, 2017*

Even if more mites were added to the hive, the predator behaviour did not change. The mites remained mostly in the vermiculite and no predation was observed. There appears to have been some mite escape or mortality since few predators (dead or alive) were recorded during the last observation day.

## Conclusion

In absence of worker bees, most of the mites remained in the vermiculite poured on top of the frame but some of them occasionally walked on the comb. A few mites were observed entering brood cells containing a bee egg and predation was rarely observed. On the other hand, when worker bees were present in the observation hives, the mites did not climb on the frames at all and no brood predation was observed. Along with our "In vivo assessment of *S. scimitus* predation upon bee brood", these observations corroborate the absence of significant predation risk of the bee brood by *S. scimitus* within colonies, and also support the role of worker bees in brood protection.

**Chapitre 3<sup>4</sup>: The use of the predatory mite  
*Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to  
control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in  
Honey bee colonies in early and late fall**

---

<sup>4</sup> Article corédigé par Sabrina Rondeau, Pierre Giovenazzo et Valérie Frounier. Soumis au périodique scientifique Journal of Economic Entomology le 28 juin 2018 (identifiant : ECONENT-2018-0417).

## Résumé

Dans cette étude, nous avons étudié l'utilisation de l'acarien prédateur *Stratiolaelaps scimitus* pour lutter contre l'acarien ectoparasite *Varroa destructor*, un ravageur important de l'abeille domestique. Notre étude visait à évaluer l'efficacité de *S. scimitus* à contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles au début et à la fin de l'automne en comparaison avec deux acaricides couramment utilisés en apiculture biologique (Thymovar® et acide oxalique) et l'absence de traitement des colonies. Nous avons d'abord comparé l'efficacité de deux doses d'introduction de *S. scimitus* (6 250 ou 12 500 acariens / colonie) en septembre puis, comme nous n'avons détecté aucune différence d'efficacité entre celles-ci, nous avons utilisé la dose actuellement recommandée par les distributeurs d'agents de lutte biologique (6 250 acariens) lors d'un traitement complémentaire (novembre). Nos résultats démontrent que le prédateur n'est pas en mesure de contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles sous les conditions testées.

## Abstract

In this study, we investigated the use of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the ectoparasitic mite *Varroa destructor*, a major pest of honey bees. Our study aimed to evaluate the effectiveness of *S. scimitus* in controlling varroa populations in early and late fall in comparison with untreated colonies and two currently used organic treatments: Thymovar® and oxalic acid. Performing weekly mite drop monitoring, we first compared the effectiveness of two introduction rates of *S. scimitus* (6,250 or 12,500 mites/colony) during a fall treatment (September) and, as we detected no differences of effectiveness between these, we used the dosage currently recommended by biocontrol suppliers (6,250 mites) in a complementary treatment test (November). Results showed that *S. scimitus* did not succeed in controlling varroa populations in honey bee colonies when introduced neither in early nor in late fall according to current suppliers' recommended rates and application method.

## Introduction

For more than a decade, winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies have remained at levels considerably higher in North America and Europe than rates identified as acceptable by beekeepers (Ferland et al. 2017; Kulhanek et al. 2017; van der Zee et al. 2012), raising concerns about the future of crop pollination services. In fact, while the global demand for commercial pollination services by honey bees is increasing (Aizen et al. 2008), the ongoing high rates of colony losses threaten the production of many vegetables, fruits, nuts and seeds (Klein et al. 2007; Potts et al. 2010). In an attempt to mitigate the negative effects of colony losses and to rebuild bee stocks in the spring, beekeepers strive to replace their dead colonies year after year (vanEngelsdorp and Meixner 2010). However, the manipulations that it implies are labor intensive and involve important financial costs (Kulhanek et al. 2017), which threaten the long-term sustainability of commercial beekeeping operations and related pollination services.

Although honey bee colony mortality is known to be driven by multiple interacting factors, the scientific consensus consider the parasitic mite *Varroa destructor* Anderson & Trueman (Acari: Varroidae) as being the main culprit of winter colony losses (McMenamin and Genersch 2015; Rosenkranz et al. 2010; van der Zee et al. 2015). Since its shift from its original host *Apis cerana* Fabr. to the Western honey bee *A. mellifera* in the middle of the 20th century, the ever-increasing widespread distribution and prevalence of the parasite have had detrimental effects to the apiculture industry, making *V. destructor* the most important pest of the world beekeeping industry (Boecking and Genersch 2008; Rosenkranz et al. 2010). Through direct parasitism of bees and transmission of virus and secondary infections (Nazzi et al. 2012; Yang and Cox-Foster 2007), this pest is known to have highly deleterious effects for colony health (Rosenkranz et al. 2010; Sammartaro et al. 2000). As a consequence, an untreated infested colony typically exhibit reduced colony growth, honey production and winter survival (Desai and Currie 2016; Emsen et al. 2014; Le Conte et al. 2010).

Several acaricides have been developed over the last decades as an attempt to control varroa infestations, especially in temperate regions where the absence of periodic treatment results in rapid colony collapse (Rosenkranz et al. 2010). Thereby, synthetic acaricides have been successfully used in the past but their repeated use has rapidly led to the development of pesticide-resistant mites (Elzen et al. 2000; Maggi et al. 2009; Milani 1999). In response, Integrated Pest Management (IPM) strategies have been developed (Delaplane et al. 2005; Rosenkranz et al. 2010), encouraging timely use of appropriate chemical and non-chemical tools. Alternative strategies to control varroa mites thus include the use of soft chemicals such as organic acids (formic acid or oxalic acid) and essential oils (thymol), genetic selection as well as cultural and physical methods (Rosenkranz et al. 2010). However, none of these strategies are sufficiently effective to be used alone (Delaplane et al. 2005).

In Eastern Canada, varroa control based on IPM is performed at multiple key moments (Eccles et al. 2016). If needed, a first treatment takes place during early spring. A summer treatment may be needed in late July to early August, while a preventive fall treatment is always strongly recommended and should occur no later than mid-September. Finally, for fall treatments using formic acid or thymol, a complementary treatment with oxalic acid must be carried out at the beginning of November, just before wintering. This very last treatment is crucial because formic acid or thymol alone does not get rid of all the mites (Coffey and Breen 2013; Gregorc et al. 2016; Gregorc and Planinc 2012). However, each of these three chemicals may have toxic effects that may affect colony productivity and survival (Alayrangues et al. 2016; Giovenazzo and Dubreuil 2011; Gregorc and Smodis Skerl 2007; Schneider et al. 2012; Vandervalk et al. 2014) while their effectiveness is strongly dependent on environmental conditions (Al Naggari et al. 2015). For example, external temperatures influence thymol evaporation, affecting its effectiveness considerably at low temperatures (< 15°C) and increasing bee mortality above 30°C (Imdorf et al. 1995; Imdorf et al. 1999). Organic acids are also toxic to humans (Canadian Honey Council 2010; Rademacher and Harz 2006) and most beekeepers would rather not use them if safer alternative measures were available. For all these reasons, the development of alternative methods of varroa control continues to stand as a research priority for the beekeeping industry (Dietemann et al. 2012; Nazzi and Le Conte 2016).

In this fight against varroa mites, however, the use of biological control agents is an important aspect of IPM that remains under-exploited. In fact, it is not easy to find a living organism that would control varroa mite numbers without increasing the mortality of the bees themselves (Chandler et al. 2001). Nevertheless, a new candidate, the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae), has been put forward in recent years as being particularly promising to control varroa mites. In a previous study (Rondeau et al., see chapter 2), we showed that in addition to being able to feed upon free varroa mites under laboratory conditions (Rangel and Ward, 2018), this generalist soil-dwelling predator can survive and be active under the physical conditions of a honey bee colony and does not represent a threat to bee brood. However, to date, few scientific data are available on the effectiveness of the investigated biocontrol agent to control varroa populations *in situ*. In fact, although preliminary observations from Ontario (Canada) suggest the predator's effectiveness in lowering varroa numbers in honey bee colonies (Scott, 2014) a recent study revealed no effectiveness of the predator in field colonies (Rangel and Ward, 2018). Considering that some beekeepers in the United States, Canada and Europe are currently using *S. scimitus* for varroa mite control in their honey bee colonies (B. Spencer, Applied Bio-nomics, comm. pers.) and that an inadequate varroa control could rapidly lead to colony collapse, we urgently need to further investigate the effectiveness of the predator in the field. If the biocontrol agent proves to be effective, the development of this novel alternative control strategy could represent a sustainable avenue for the control of the most problematic health issue in honey bees which, in turn, could be combined with other means of varroa control in an IPM system.

The main objective of this study was to investigate whether the late introduction of the predatory mite *S. scimitus* into honey bee colonies could effectively be used in the context of integrated pest management against varroa mites under the cold temperate climate of Quebec, Canada. More specifically, this project aimed to evaluate and compare the effectiveness of *S. scimitus* in controlling varroa populations when used: 1) in the early fall in comparison with Thymovar®, and 2) in replacement of oxalic acid to complement a standard fall treatment in November. Performing mite drop monitoring, we first compared the effectiveness of two introduction rates of *S. scimitus* during a fall treatment and, as we detected no differences of effectiveness between these, we used the dosage currently recommended by biocontrol suppliers in our complementary treatment test.

## Materials and Methods

### Honey Bee Colonies

The trials were conducted in experimental apiaries of the Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CSRAD) located in the province of Quebec, Canada. All colonies used in each trial had one year old sister queens of known descent. Each colony was housed in a Langstroth commercial hive consisting of a single brood chamber (10 frames) above a screened bottom board allowing the varroa mites to fall through to sticky traps. The colonies had not been treated with acaricides since the previous year (fall 2016, Thymovar® followed by oxalic acid). All honey suppers were removed on September 11, 2017, and colonies were then fed with sucrose syrup (50% w/v).

### Predatory Mite Sources

The biocontrol agent *S. scimitus* was supplied by Applied Bio-nomics Ltd. (British Columbia, Canada) in a mixture of vermiculite and peat in 1L bottles with mold mites (*Tyrophagus putrescentiae*) as a food source. The product was used within two days following its reception and was checked for predator vitality using a stereomicroscope before its use. Upon receipt, the product was stored in its original containers, lying on their side in complete darkness at 15°C.

### Fall treatment

Field trials to assess the effectiveness of *S. scimitus* as a varroa treatment were performed according to the COLOSS BEEBOOK recommendations (Dietemann et al. 2013). The trials were conducted between August 28 and November 27, 2017, in a single apiary (46°40'37.86"N, 71°42'0.67"O), using a completely randomized design. Three weeks before the treatment, 28 colonies were evaluated for strength (number of frames covered with bees), queen status and overall colony health. From then, natural mite drop from the colonies was monitored once a week until the end of the test, using home-made sticky boards consisting of

corrugated plastic sheets coated with vegetable shortening. In order to balance colony strength between groups, colonies were first ranked from the weakest to the strongest and divided in seven groups. For each group, a colonies were randomly assigned to one of the four treatments, resulting in seven colonies per group: 1) negative control (no treatment), 2) low rate of predatory mites ( $\approx 6,250$  mites; 250 ml/colony), 3) high rate of predatory mites ( $\approx 12,500$  mites; 500 ml/colony), and 4) positive control (application of one wafer of Thymovar®/colony as per label). Then, an ANOVA was performed to compare the initial varroa infestation levels between groups and to ensure similar levels of infestation. The two predatory mite rates were chosen based on supplier recommendations and previous anecdotal observations (Scott, 2014). Colonies were treated on September 11, 2017, either by sprinkling 500 ml of pre-autoclaved vermiculite (group 1) or the corresponding amount of vermiculite-based medium containing *S. scimitus* (groups 2 and 3) over the top bar of the brood frames, or by using Thymovar® according to label directions (group 4). Each wafer of Thymovar® contained 15 g of thymol. The wafer was cut in half and placed on top of the combs of the top brood chamber on either side of the edge of the brood. Thymovar® wafers were removed after four weeks and we continued counting the mites for one additional week to allow for possible residual effect. By that time, the mite drop had returned to pre-treatment levels.

In order to quantify the number of varroa mites remaining in the colonies and to calculate the effectiveness of each treatment, a follow-up treatment was performed on October 16, 2017, on all the colonies, using Apivar® (active ingredient: amitraz; 2 strips/colony) according to label directions. Here again, the natural mite drop was monitored with sticky boards once a week throughout the duration of the treatment (42 days). The effectiveness of each fall treatment was calculated as follows (Dietemann et al. 2013): **% Effectiveness = (total number of mites killed during fall treatment x 100) / (total number of mites killed during fall treatment + total number of mites killed during follow-up treatment with Apivar®).**

## Complementary treatment

The twenty-one colonies used in this trial were located in one single apiary (46°48'17.05"N, 71°44'26.71"O) – not the same as from the previous experiment – and each colony had been previously treated with Thymovar® (one wafer/colony) on September 11, 2017, according to label directions. The wafers were removed after four weeks of treatment. On October 31, 2017, these colonies were also evaluated for strength (number of frames covered with bees), queen status and overall colony health. We then started monitoring natural mite drop once a week using sticky boards. Colony strength and initial varroa infestation levels between groups were balanced using the same method as previously described and seven colonies were randomly assigned to each of the three treatment groups. Colonies were treated two weeks later according to the following treatments: 1) negative control (no treatment; 250 ml of pre-autoclaved vermiculite), 2) predatory mites ( $\approx 6,250$



mites; 250 ml/colony), and 3) positive control (oxalic acid dihydrate in sucrose solution). The vermiculite (group 1) and the medium containing the predatory mites (group 2) were introduced in colonies by pouring the substrate over the top bar of the brood frames, while oxalic acid was applied following the standard trickling method procedures according to label directions (Canadian Honey Council 2010). Thereby, the oxalic acid solution was trickled directly onto the bees (5 ml in each occupied bee space) and the total dose did not exceed 35 ml per colony. The solution was prepared by dissolving 35 g of Oxalic Acid Dihydrate (99.65%) in 1 liter of 50% sucrose solution (w/v).

On November 23, 2017, colonies were moved to a building for indoor overwintering ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ). At that time, we continued monitoring mite drop weekly until the numbers had returned to pre-treatment levels. The last monitoring of the fall was conducted on December 11, 2017, four weeks after the treatment application.

On April 20, 2018, the hives were taken out of the overwintering building and subsequently evaluated for survival and strength (number of frames covered with bees) three days later. At that time, we observed the frames and the floor of the hives in search of *S. scimitus* individuals. A follow-up treatment was performed on April 24, 2018, on all the colonies, using CheckMite+® (active ingredient: coumaphos; 2 strips/colony) according to label directions. We once again weekly monitored the natural mite drop with sticky boards throughout the duration of the treatment (43 days). The effectiveness of each treatment was calculated as previously described: **% Effectiveness = (total number of mites killed during the complementary treatment x 100) / (total number of mites killed during the complementary treatment + total number of mites killed during follow-up treatment with CheckMite+®).**

## Temperature records

For both experiments, ambient temperature records were obtained from the nearest weather station (Donnacona2, QC) of Environment and Climate Change Canada. The station was located at 3 and 13 km from the apiaries of our fall and complementary experiments respectively. Daily minimal and maximal temperatures were used to verify if the optimal conditions of use were met for each treatment.

## Statistical analysis

For both experiments, varroa mite drop dynamics were analysed using the proc mixed procedure in SAS® University Edition (version 9.4 M4). Data were first divided in groups: pre-treatment period, treatment period, and – if applicable – follow-up treatment period. Then, for each group, a repeated measures analysis of variance (RM-ANOVA) with autoregressive correlation structure was performed on log-transformed data in order to compare the effect of treatments, time and their interaction on the numbers of weekly fallen varroa mites.

Significant parameters were then analysed using planned contrasts to compare the weekly mite drop between: 1) positive control and other treatments, 2) negative control vs *S. scimitus*, and – for the fall treatment only – 3) low vs high rates of *S. scimitus*. Concerning the effectiveness calculations of the fall treatment experiment, two colonies were removed from the analysis due to missing data, reducing the number of repetitions (n=6) for group 2 (low rate of *S. scimitus*) and group 4 (Thymovar®). For both experiments, treatment effectiveness was calculated as a percentage for each colony and log-transformed for normalization prior to statistical analyses. Using the R software (R Core Team 2016), differences in means between groups were assessed using a one-way ANOVA followed by the same planned contrasts described above. Significance was defined as  $p < 0.05$  for all analyses.

## Results

Average initial infestation of colonies were 1,228 varroas/colony (fall treatment) and 888 varroas/colony (complementary treatment), which is well above the COLOSS BEEBOOK recommendation of 300 mites/colony for treatment efficacy trial purposes (Dietemann et al. 2013). Similarly, the infestation level of all colonies remained below the damage threshold ( $< 4,200$  mites per colony) identified by Delaplane and Hood (1999).

### Fall treatment

The treatment application was carried out during a sunny morning of 16°C. Throughout the treatment, the daily ambient temperatures ranged from -3.2 to 31.8°C (Table 5). Mean ( $\pm$  SD) daily ambient temperatures from the first to the last week of treatment were  $16.6 \pm 2.2^\circ\text{C}$ ,  $17.9 \pm 2.4^\circ\text{C}$ ,  $13.5 \pm 7.3^\circ\text{C}$ ,  $11.3 \pm 3.0^\circ\text{C}$  and  $9.1 \pm 3.3^\circ\text{C}$ .

Prior to the treatment, the average ( $\pm$  SE) weekly varroa mite fall was  $32 \pm 3$  mites per colony and did not significantly differ between treatment groups (RM-ANOVA,  $F_{(3, 24)} = 0.17$ ,  $p = 0.916$ ). During the treatment period, only the time had an effect on the mite drop ( $F_{(4, 90)} = 6.56$ ,  $p < 0.001$ ) while the effect of the treatments ( $F_{(3, 27)} = 1.12$ ,  $p = 0.357$ ) and the overall effect of the interaction between treatments and time ( $F_{(12, 89)} = 0.88$ ,  $p = 0.573$ ) were not significant. However, when treatment means were compared within each week using contrasts, varroa mite drop was significantly higher in colonies treated with Thymovar® compared to other treatments during the first ( $p = 0.001$ ) and the second ( $p = 0.033$ ) week of treatment. The average number of fallen varroa mites subsequently declined over the following weeks. Throughout the 5-week treatment period, however, the average mite drop in colonies treated with *S. scimitus* never differed from those in untreated colonies and there was no difference between both rates of *S. scimitus*. Similarly, during the follow-up treatment period, neither the effect of treatments on the mite drop nor the overall effect of the interaction between treatments and time ( $F_{(15, 102)} = 0.90$ ,  $p = 0.567$ ) were significant. However, as a result of higher varroa mortality

with Thymovar®, the average number of fallen varroa mites was significantly lower in this group during the first week after the application of Apivar® ( $p = 0.028$ ), when data were compared within each week using contrasts. On the other hand, varroa mite drop in the colonies treated with the predatory mite continued to share the same dynamic with control colonies (Fig 11).

The average effectiveness of each fall treatment is given in Table 6. In control colonies, the natural mite reduction ranged from 9.3% to 25.8%, which was really similar to the effectiveness of *S. scimitus* at both low (12.2% to 22.1%) and high (11.6% to 27.3%) rates. Thymovar® was the most effective treatment, with a calculated effectiveness ranging from 37.8% to 77.6%. There was a significant difference of effectiveness between treatments (ANOVA,  $F_{(3, 22)} = 32.4$ ,  $p < 0.001$ ) and subsequent contrast analyses showed a significantly higher effectiveness of Thymovar® compared with other treatments ( $p < 0.001$ ), but no difference in effectiveness between the control group and the use of *S. scimitus* ( $p = 0.803$ ) or between the two tested rates of *S. scimitus* ( $p = 0.295$ ).

## Complementary treatment

The temperature (2°C) was much cooler when the complementary treatment was applied in November. At that time, the nocturnal temperatures were under 0°C. Throughout the treatment, the daily ambient temperatures ranged from -16.0°C to 5.7°C (Table 5). Mean ( $\pm$  SD) daily ambient temperatures during the first and the second week of treatment were  $-2.2 \pm 2.6^\circ\text{C}$  and  $-2.3 \pm 5.5^\circ\text{C}$ . During the last two weeks of treatment, the ambient indoor temperature in the wintering shed was maintained at  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

The average ( $\pm$  SE) weekly varroa mite fall per colony ( $54 \pm 8$ ) did not significantly differ between treatment groups prior to the treatment (RM-ANOVA,  $F_{(2, 18)} = 0.23$ ,  $p = 0.753$ ). During the treatment period, there was a significant interaction between treatment and time ( $F_{(6, 52)} = 5.01$ ,  $p < 0.001$ ). Our contrast analysis revealed significantly higher numbers of fallen varroa mites with oxalic acid during the entire treatment period (Fig 12). On the contrary, the varroa mite drop was not different between untreated colonies and colonies treated with *S. scimitus* at any time during treatment. During the follow-up treatment period, both treatment ( $F_{(2, 18)} = 3.4$ ,  $p = 0.036$ ) and time ( $F_{(5, 77)} = 44.23$ ,  $p < 0.0001$ ) had a significant effect on the weekly mite drop but no interaction was detected. Here again, as a result of higher varroa mortality with oxalic acid, the average number of fallen varroa mites was significantly lower in this group during the first week after the application of CheckMite+® ( $p = 0.031$ ), when data were compared within each week using contrasts. As for varroa mite drop in the colonies treated with the predatory mite, it continued to share a similar dynamic with control colonies throughout the follow-up treatment period (Fig 12).

All 21 colonies survived through winter and there was no difference in strength (6 frames of bees on average) between colonies of each group (ANOVA,  $F_{(2, 18)} = 0.11$ ,  $p = 8996$ ) after the wintering period. During the spring evaluation, no *S. scimitus* individual was observed neither on sticky boards nor in the hives.

The average effectiveness of each complementary treatment is shown in table 7. The natural mite reduction in control colonies of the complementary treatment was comparable to those of the fall treatment and ranged from 3.7% to 22.4%, which was similar to the effectiveness of *S. scimitus* (4.2% to 35.6%). Of the three treatments, oxalic acid was the most effective, with a calculated effectiveness ranging from 83.6% to 92.0%, with an outlier of 45.4%. This last data was kept in the analysis as it reflects the existing difficulty of obtaining reliable treatment effectiveness time after time. In this case, the median (87.0%) serves as a better indicator of the real oxalic acid effectiveness. The calculated effectiveness differed significantly between treatments (ANOVA,  $F_{(2, 18)} = 195$ ,  $p < 0.001$ ) and subsequent contrast analyses showed a significantly higher effectiveness of oxalic acid compared with other treatments ( $p < 0.001$ ), but no difference in effectiveness between the control group and the use of *S. scimitus* ( $p = 0.499$ ).

## Discussion

Our study showed that the use of *S. scimitus* did not succeed in controlling varroa populations in honey bee colonies when introduced neither in early nor in late fall according to current suppliers' recommended rates and application method. The dosage currently recommended by biocontrol suppliers is about 150 ml to 200 ml per hive ( $\approx 3,750$  to 5,000 mites) (B. Spencer, Applied Bio-nomics, pers. comm.), which correspond to the lowest rate used in this trial. However, neither this dosage nor the double of it (high rate) increased varroa mortality when compared to untreated colonies. For both experiments, the calculated average natural varroa mortality in the control colonies during treatment period (16.5% and 14.6%) is similar to the 17.8% mortality reported by Coffey and Breen (2013) and slightly lower than the 23% reported in Stanghellini 2004. The calculated effectiveness of both rates of *S. scimitus* reported in our study does not exceed this natural varroa mortality. Higher rates of introduction could potentially increase the level of varroa control using *S. scimitus*. However, if it was the case, the use of the biocontrol agent would be rather expensive, considering that a treatment with 500 ml of the product containing *S. scimitus* (high rate) currently details approx. \$15.00 CAD per colony. According to Canadian reference, this is three times the price of a treatment with Thymovar® (\$4.50/colony) and more than 100 times the price of a treatment with oxalic acid (less than \$0.15/colony).

Our data showed similar varroa mite mortality dynamics between colonies treated with *S. scimitus* and untreated ones. In both trials, the predatory mite did not cause higher initial varroa mite mortality following treatment application, which suggests that multiple introductions would not be more efficient. Similarly, a field experiment conducted at Texas A&M University in fall 2014 and spring 2015 recorded no significant difference of varroa population reductions with weekly inoculations of 2,500 *S. scimitus* individuals (100 ml) during a six-week period (Rangel and Ward, 2018). Moreover, even if repeated introductions of *S. scimitus* could cause higher varroa mite mortality, such labor intensive treatment schedule would probably not be adopted by commercial beekeepers with substantial numbers of colonies.

Our results contradict the anecdotal but promising observations of varroa control with *S. scimitus* reported by the Niagara Beeway in Ontario, Canada (Scott, 2014). The lack of details for methods and related results of the preliminary investigation they conducted makes the comparison with our study difficult. However, our results do not support their observation of similar varroa control levels obtained with *S. scimitus* and chemicals. This is important because many biocontrol suppliers and honey bee professionals cite the research done at the Niagara Beeway as a reference for *S. scimitus* potential to fight the varroa. Using an ineffective varroa treatment may have highly detrimental effects on colony health and survival. Therefore, beekeepers and bee professionals should be aware that the field effectiveness of the predatory mite must be confirmed by peer reviewed experimental data. Our study, on the contrary, provides evidence of the ineffectiveness of *S. scimitus* in varroa control, at least under the conditions and region within which we conducted the experiments.

In a recent study, Rangel and Ward (2018) detected no significant effect of *S. scimitus* treatment on lowering varroa populations in colonies compared to an untreated control group. However, their study was performed in different field settings (lower rate of *S. scimitus*, multiple introductions, spring treatment) and did not include the calculation of the predator's effectiveness (%) to reduce varroa populations in hives. Another important difference to mention between both studies is the acaricide used as a positive control treatment. In their study, Rangel and Ward (2018) compared the effectiveness of *S. scimitus* with that of Apivar® (amitraz, synthetic acaricide). However, comparing the effectiveness of a biological control agent with that of an acaricide with a known effectiveness of nearly 100% is likely to result in the absence of significant difference in results. In our trials, we compared the predator effectiveness with those of two organic chemicals, making our comparisons more realistic of what we should expect from a biological control agent (i.e. a more modest effectiveness). Nevertheless, our results corroborate the first findings of these authors, which reinforce the effectiveness improbability of the predatory mite in varroa control.

In our fall treatment experiment, Thymovar® was the most effective treatment to reduce varroa mite populations. However, the effectiveness percentage of Thymovar® calculated in the present study (64.7%) is

lower than those reported in previous ones. For example, Coffey and Breen (2013) and Vandervalk et al. (2014) reported an average effectiveness of 84% and 89% for Thymovar® in the cool climate of Ireland and Western Canada respectively. These differences in effectiveness probably reflect different treatment methods, climatic conditions, geographic emplacement and hive management practices. For instance, while we used only one wafer of Thymovar® per hive for four weeks in our study, both of the previous studies used two wafers for a longer period of time. Considering the specific climatic conditions encountered in Quebec, Thymovar® is traditionally used during a shorter period and its use is followed by a complementary treatment with oxalic acid. Moreover, it is suggested by the Health Canada Pest Management Regulatory Agency (2010) that the effectiveness of Thymovar® may be reduced if it is applied during the feeding period due to increased ventilation by bees. This could explain the lower effectiveness obtained in our study as we performed both at the same time. However, this practice is commonly used by beekeepers in order to reduce the number of manipulations required during fall hive management. Thus, we consider that our results accurately reflect Thymovar® effectiveness obtained in the realistic hive management conditions of Eastern Canada.

The calculated effectiveness of Thymovar® to kill varroa mites varied strongly at the colony level, going up to double between the lower (37.8%) and the higher (77.6%) obtained percentages. This is not surprising since thymol typically shows inconsistent degrees of varroa control and great variability between studies, localities and environmental conditions (Coffey and Breen 2013; Floris et al. 2004; Leza et al. 2015). In fact, it seems that the amount of thymol delivered in hives decreases at low temperatures and high humidity (Emsen et al. 2007). Considering the high variability of our results, the median (73.1%) is probably a better indicator of Thymovar® effectiveness than the mean. Moreover, moderate levels of overall varroa infestation in colonies – as obtained in our study – typically allow the use of less effective control treatments when multiple IPM strategies are used together. If we consider that the fall treatment is to be followed by a complementary treatment in November, the use of Thymovar® remains an adequate IPM tool for varroa control.

Based on varroa mite mortality dynamics, oxalic acid provided significant varroa control as a complementary treatment. This organic acid is typically reserved as a late-season treatment when there is little or no brood production, to complement a fall treatment with soft chemicals (e.g. formic acid or thymol). In late fall, as a result of broodless colonies, the entire population of varroa mites parasitizes adult bees (phoretic stage). In such conditions, many studies have demonstrated the effectiveness of oxalic acid in varroa control. For example, using the same trickling method to apply oxalic acid as we used in this study, Charriere and Imdorf (2002) reported > 97% varroa control effectiveness in late fall. Similarly, Stanghellini and Raybold (2004) reported 92% mite mortality in the Northern temperate climate of New Jersey (USA). This is slightly higher than the effectiveness obtained in our study (mean: 82.1%, median: 87.0%), which still confirms the effectiveness of oxalic acid under the testing conditions. On the other hand, a previous study conducted at our laboratory showed

that *S. scimitus* does not attack varroa mites when they are attached to the body of adult bees (Rondeau et al., see chapter 2). This finding is consistent with the poor varroa biocontrol achieved in the present study and probably constitutes the main explanation for the predator ineffectiveness.

Under magnification, very few evidence of predation was noted on varroa shells fallen on sticky boards. During the first two weeks following the early fall introduction of *S. scimitus* in hives, we recorded some *S. scimitus* individuals walking on the sticky boards (< 10 individuals/board). From the third week, no more *S. scimitus* were found. Similarly, in previous trials we observed the presence of the predatory mite in the hive for at least 10 days during summer. However, in the complementary treatment experiment, we never recorded its presence on boards, even during the first week following its introduction. It is important to note that the sticky boards used in our study for varroa monitoring did not trap the predatory mites, as they easily move over the vegetable shortening layer covering the corrugated plastic sheets. On the other hand, dozens of mold mites (presumably *Tyrophagus putrescentiae*) were seen on our boards during the first weeks of treatment of both experiments. Most likely, these mites were introduced along with *S. scimitus* since they are supplied with the predatory mite as a food source during the transit and in storage. Similarly, no *S. scimitus* individuals were recorded in the hives on the following spring although we observed many mold mites and other mite species on the hive floor of several colonies. These observations suggest that the biocontrol agent may have left the hives soon after its introduction in November or, at least, that it did not stay in the hives throughout the winter. In any case, more data on the behaviour and movements of *S. scimitus* within bee colonies would be needed to fully understand its ecological dynamics and related biocontrol potential against varroa mites under the characteristic conditions of the honey bee hive.

Environmental conditions, especially temperature, may have played an important role in the results obtained. For instance, the field effectiveness of thymol based products is known to be reduced under 15°C (Imdorf et al. 1995). For better results, fabricant recommendations for Thymovar® include a daily maximum temperature above 12°C. This recommendation was met in our study, since the maximum daily ambient temperature never ran under 16°C during the 4-week treatment period with Thymovar®. From mid-October, however, ambient temperatures decreased significantly, justifying the use of oxalic acid in late fall, which remains effective at cool temperatures. Of course, living organisms are also sensitive to temperature conditions. It is known that the predator *S. scimitus* can develop and reproduce between 15 °C and 30°C, with an optimum temperature of 25°C (Ydergaard et al. 1997). Under 12°C, the predatory mite can no longer complete its developmental cycle (Wright and Chambers 1994) but adults may still survive for several weeks at 10°C (Steiner et al. 1999). Although we did not monitor the temperatures at the hive floor – where *S. scimitus* is most likely to be found – it is evident that the conditions were milder during the fall experiment than during the complementary one. This would explain why we observed some predators walking on sticky boards only in early fall. One of the

most plausible explanation would be that the predator had rapidly returned to the ground, its natural environment, to escape the cool weather.

Even in the two weeks during which the predator stayed in the hive, *S. scimitus* had no effect on varroa mortality, indicating that other factors than just climatic conditions have played a role in the predator's inability to control varroa populations. Both the inability of *S. scimitus* to attack phoretic varroa mites and the presence of multiple food sources in the hive have been put forward in our previous study as potential barriers likely to reduce the efficiency of *S. scimitus* to target the varroa. Acaricide residues accumulated in hive materials could also have prompted *S. scimitus* to escape from its new environment. However, we do not think that the concentration of these residues was high enough to kill the predatory mite since we noticed the presence of other mite species on the sticky boards throughout the varroa monitoring process. Summer would probably be a more appropriate season to introduce *S. scimitus* into colonies considering the warmer ambient temperatures. Yet, even if summer conditions could increase varroa mortality induced by *S. scimitus*, treatment with the predator would be likely more effective if used in combination with other varroa control strategies. However, this is tricky since the biocontrol agent, which is a mite just like the varroa, could not be used at the same time of any chemical acaricides. This is not the case for every biological control agent – some fungi, for instance, can be used in combination with thymol but still does not increase the effectiveness of the chemical (Sinia and Guzman-Novoa 2018). For this reason, we think that the integration of *S. scimitus* in an IPM approach would be very difficult and has few chances of success.

In light of the results obtained, we believe that the predatory mite *S. scimitus* does not show promise as a viable alternative for the control of varroa mites under the cold temperate climate of Eastern Canada. Along with our previous study (Rondeau et al., see chapter 2), our results provide strong evidence that the use of *S. scimitus* is not an effective means of varroa control when introduced in the fall. Thus, we discourage the use of the predator as a replacement for a varroa treatment of known effectiveness, at least until new scientific evidence is shown. This recommendation is also most probably valid in many cold temperate climate areas. On the other hand, our study confirmed that Thymovar® and oxalic acid, two widely used organic varroacides, remain effective options for controlling varroa mite populations during fall in Quebec. Considering the numerous disadvantages of the use of chemicals in beekeeping, research on less damaging alternative avenues for varroa control remain necessary.

## **Acknowledgments**

This research was funded by the North American Pollinator Protection Campaign (NAPPC) and the Eastern Apicultural Society (EAS). We would also like to mention the great support and generous in-kind contribution of the Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) without whom this



project could not have taken place. Special thanks are extended to Michael Benoit, Martine Bernier, Georges Martin, Marilène Paillard, Hassina Yacini and all the beekeeping team at the CRSAD for their valuable assistance throughout the project. Thanks to Brian and Adam Spencer (Applied Bio-nomics Ltd) for their in-kind supplies of *Stratiolaelaps scimitus* and to all the interns and professionals who helped with the project: Aurélie Boilard, Catherine Bolduc, Marine Daniel, Romain Exiro and Olivier Samson-Robert. Sabrina Rondeau would also like to thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT) and the Canadian Federation of University Women (CFUW) for various scholarships.

## References

Aizen MA, Garibaldi LA, Cunningham SA, Klein AM (2008) Long-Term Global Trends in Crop Yield and Production Reveal No Current Pollination Shortage but Increasing Pollinator Dependency. *Curr Biol* 18:1572-1575. doi:10.1016/j.cub.2008.08.066

Al Naggat Y, Tan Y, Rutherford C, Connor W, Griebel P, Giesy JP, Robertson AJ (2015) Effects of treatments with Apivar® and Thymovar® on V-destroyer populations, virus infections and indoor winter survival of Canadian honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J Apic Res* 54:548-554. doi:10.1080/00218839.2016.1186917

Alayrangues J, Hotier L, Massou I, Bertrand Y, Armengaud C (2016) Prolonged effects of in-hive monoterpenoids on the honey bee *Apis mellifera*. *Ecotoxicology* 25:856-862. doi:10.1007/s10646-016-1642-x

Boecking O, Genersch E (2008) Varroosis - the ongoing crisis in bee keeping. *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit-Journal of Consumer Protection and Food Safety* 3:221-228. doi:10.1007/s00003-008-0331-y

Canadian Honey Council (2010) Label for the use of Oxalic Acid Dihydrate vol 29575. Calgary

Chandler D, Sunderland KD, Ball BV, Davidson G (2001) Prospective biological control agents of *Varroa destructor* n. sp., an important pest of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Biocontrol Sci Technol* 11:429-448. doi:10.1080/09583150120067472

Charriere JD, Imdorf A (2002) Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*: recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World* 83:51-60. doi:10.1080/0005772x.2002.11099541

Coffey MF, Breen J (2013) Efficacy of Apilife Var® and Thymovar® against *Varroa destructor* as an autumn treatment in a cool climate. *J Apic Res* 52. doi:10.3896/ibra.1.52.5.07

Delaplane KS, Berry JA, Skinner JA, Parkman JP, Hood WM (2005) Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *J Apic Res* 44:157-162

Delaplane KS, Hood WM (1999) Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30:383-395. doi:10.1051/apido:19990504

Desai SD, Currie RW (2016) Effects of Wintering Environment and Parasite-Pathogen Interactions on Honey Bee Colony Loss in North Temperate Regions. *Plos One* 11. doi:10.1371/journal.pone.0159615

Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, Anderson DL, Locke B, Delaplane KS, et al. (2013) Standard methods for varroa research. *J Apic Res.* 52(1):1-54. doi: 10.3896/IBRA.1.52.1.09

Dietemann V, Pflugfelder J, Anderson D, Charriere JD, Chejanovsky N, Dainat B, et al. (2012) *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *J Apic Res.* 51(1):125-32. doi:10.3896/ibra.1.51.1.15

Eccles L, Kempers M, Mijares Gonzalez R, Thurston D, Borges D (2016) Pratiques de gestion optimales canadiennes pour la santé des abeilles mellifères. Table ronde sur la santé des abeilles

Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT (2000) Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie* 31:437-441. doi:10.1051/apido:2000134

Emsen B, Guzman-Novoa E, Kelly PG (2007) The effect of three methods of application on the efficacy of thymol and oxalic acid for the fall control of the honey bee parasitic mite *Varroa destructor* in a northern climate. *American Bee Journal* 147:535-539

Emsen B, Guzman-Novoa E, Kelly PG (2014) Honey production of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with high and low *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation rates in eastern Canada. *Can Entomol* 146:236-240. doi:10.4039/tce.2013.68

Ferland J, Nasr M, Wilson G, Jordan C, Kempers M, Kozak P, et al. (2017) Canadian Association of Professional Apiculturists Statement on Honey Bee Wintering Losses in Canada (2017).

Floris I, Satta A, Cabras P, Garau VL, Angioni A (2004) Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: Effectiveness, persistence, and residues. *J Econ Entomol* 97:187-191. doi:10.1603/0022-0493-97.2.187

Giovenazzo P, Dubreuil P (2011) Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Exp Appl Acarol* 55:65-76. doi:10.1007/s10493-011-9447-3

Gregorc A, Adamczyk J, Kapun S, Planinc I (2016) Integrated varroa control in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies with or without brood. *J Apic Res* 55:253-258. doi:10.1080/00218839.2016.1222700

Gregorc A, Planinc I (2012) Use of Thymol Formulations, Amitraz, and Oxalic Acid for the Control of the Varroa Mite in Honey Bee (*Apis mellifera carnica*) Colonies. *Journal of Apicultural Science* 56:61-69. doi:10.2478/v10289-012-0024-8

Gregorc A, Smodis Skerl MI (2007) Toxicological and immunohistochemical testing of honeybees after oxalic acid and rotenone treatments. *Apidologie* 38:296-305. doi:10.1051/apido:2007014

Health Canada Pest Management Regulatory Agency (2010) Label instructions for the use of Thymovar® vol 29747. Quebec, Canada

Imdorf A, Bogdanov S, Kilchenmann V, Maquelin C (1995) Apilife Var - A New Varroacide With Thymol As the Main Ingredient. *Bee World* 76:77-83. doi:10.1080/0005772x.1995.11099245

Imdorf A, Bogdanov S, Ochoa RI, Calderone NW (1999) Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30:209-228. doi:10.1051/apido:19990210

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *P Roy Soc B-Biol Sci* 274:303-313. doi:10.1098/rspb.2006.3721

Kulhanek K et al. (2017) A national survey of managed honey bee 2015-2016 annual colony losses in the USA. *J Apic Res* 56:328-340. doi:10.1080/00218839.2017.1344496

Le Conte Y, Ellis M, Ritter W (2010) *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie* 41:353-363. doi:10.1051/apido/2010017

Leza MM, Llado G, Miranda-Chueca MA (2015) Comparison of the efficacy of Apiguard (thymol) and Apivar (amitraz) in the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Spanish Journal of Agricultural Research* 13:5. doi:10.5424/sjar/2015133-6880

Maggi MD, Ruffinengo SR, Damiani N, Sardella NH, Eguaras MJ (2009) First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Exp Appl Acarol* 47:317-320. doi: 10.1007/s10493-008-9216-0

McMenamin AJ, Genersch E (2015) Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science* 8:121-129. doi:10.1016/j.cois.2015.01.015

Milani N (1999) The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30:229-234. doi:10.1051/apido:19990211

Nazzi F et al. (2012) Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Pathog* 8(6): e1002735. doi:10.1371/journal.ppat.1002735

Nazzi F, Le Conte Y (2016) Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. In: Berenbaum MR (ed) *Annual Review of Entomology*, Vol 61. *Annual Review of Entomology*. pp 417-432. doi:10.1146/annurev-ento-010715-023731

Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol Evol* 25:345-353. doi:10.1016/j.tree.2010.01.007

Rademacher E, Harz M (2006) Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies - a review. *Apidologie* 37:98-120. doi:10.1051/apido:2005063

Rangel J, Ward L (2018) Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *J Apic Res* 57:425-432. doi: 10.1080/00218839.2018.1457864

Rondeau S, Giovenazzo P, Fournier V (submitted) Risk assessment and predation potential of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bees.

Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol* 103 Suppl 1:S96-119. doi:10.1016/j.jip.2009.07.016

Sammataro D, Gerson U, Needham G (2000) Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annu Rev Entomol* 45:519-548. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.519

Schneider S, Eisenhardt D, Rademacher E (2012) Sublethal effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): changes in behaviour and longevity. *Apidologie* 43:218-225. doi:10.1007/s13592-011-0102-0

Scott, G. (2014). Varroa Mite 2014 Report. <https://www.niagarabeeway.com/varroa-mite.html>

Sinia A, Guzman-Novoa E (2018) Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* GHA and *Metarhizium anisopliae* UAMH 9198 alone or in combination with thymol for the control of *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J Apic Res* 57: 308-316. doi: 10.1080/00218839.2018.1430983.

Stanghellini MS, Raybold P (2004) Evaluation of selected biopesticides for the late fall control of varroa mites in a northern temperate climate. *American Bee Journal* 144:475-480

Steiner M, Goodwin S, Wellham T (1999) A simplified rearing method for *Stratiolaelaps (Hypoaspis) miles* (acari: Laelapidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 22:241-242

van der Zee R, Gray A, Pisa L, de Rijk T (2015) An Observational Study of Honey Bee Colony Winter Losses and Their Association with *Varroa destructor*, Neonicotinoids and Other Risk Factors. *Plos One* 10(7): e0131611. doi:10.1371/journal.pone.0131611

van der Zee R et al. (2012) Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *J Apic Res* 51:91-114. doi:10.3896/ibra.1.51.1.12

Vandervalk LP, Nasr ME, Dosdall LM (2014) New Miticides for Integrated Pest Management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Honey Bee Colonies on the Canadian Prairies. *J Econ Entomol* 107:2030-2036. doi:10.1603/ec14048

vanEngelsdorp D, Meixner MD (2010) A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J Invertebr Pathol* 103:S80-S95. doi:10.1016/j.jip.2009.06.011

Wright EM, Chambers RJ (1994) The biology of the predatory mite *Hypoaspis miles* (Acari, Laelapidae), a potential biological-control agent of *Bradysia paupera* (Dipt, Sciaridae). *Entomophaga* 39:225-235. doi:10.1007/bf02372360

Yang X, Cox-Foster D (2007) Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology* 134:405-412. doi:10.1017/s003118200600710

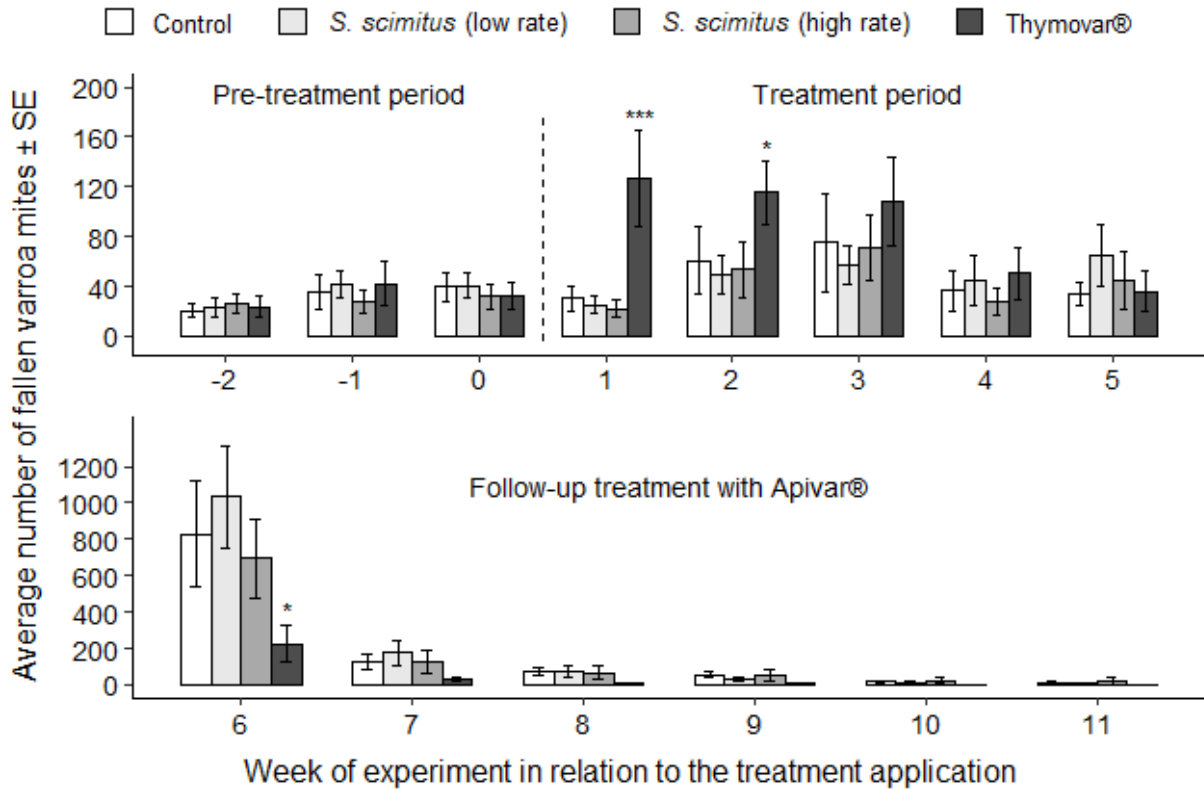
Ydergaard S, Enkegaard A, Brodsgaard HF (1997) The predatory mite *Hypoaspis miles*: Temperature dependent life table characteristics on a diet of sciarid larvae, *Bradysia paupera* and *B. tritici*. *Entomol Exp Appl* 85:177-187. doi:10.1046/j.1570-7458.1997.00248.x

## Appendices

**Table 5. Daily ambient temperatures recorded during the treatment of honey bee colonies against varroa mites between September 11 and October 16, 2017 (fall experiment) and between November 13 and December 11, 2017 (complementary treatment).** Temperature records were obtained from a weather station of Environment and Climate Change Canada located at 3 and 13 km from the apiaries.

Treatment week	Daily ambient temperature (°C)		
	Mean	Minimum	Maximum
<b><u>Fall experiment</u></b>			
Week 1	16.6	3.3	27.4
Week 2	17.9	6.1	30.1
Week 3	13.5	-3.2	31.8
Week 4	11.3	-0.3	23.5
Week 5	9.1	-3.2	17.6
<b><u>Complementary experiment</u></b>			
Week 1	-2.2	-11.7	5.7
Week 2	-2.3	-16.0	4.0
Week 3	Indoor temperature* : 4.0 ± 1.0 °C		
Week 4			

\* On November 23, 2017, colonies were moved in a wintering building for indoor overwintering.

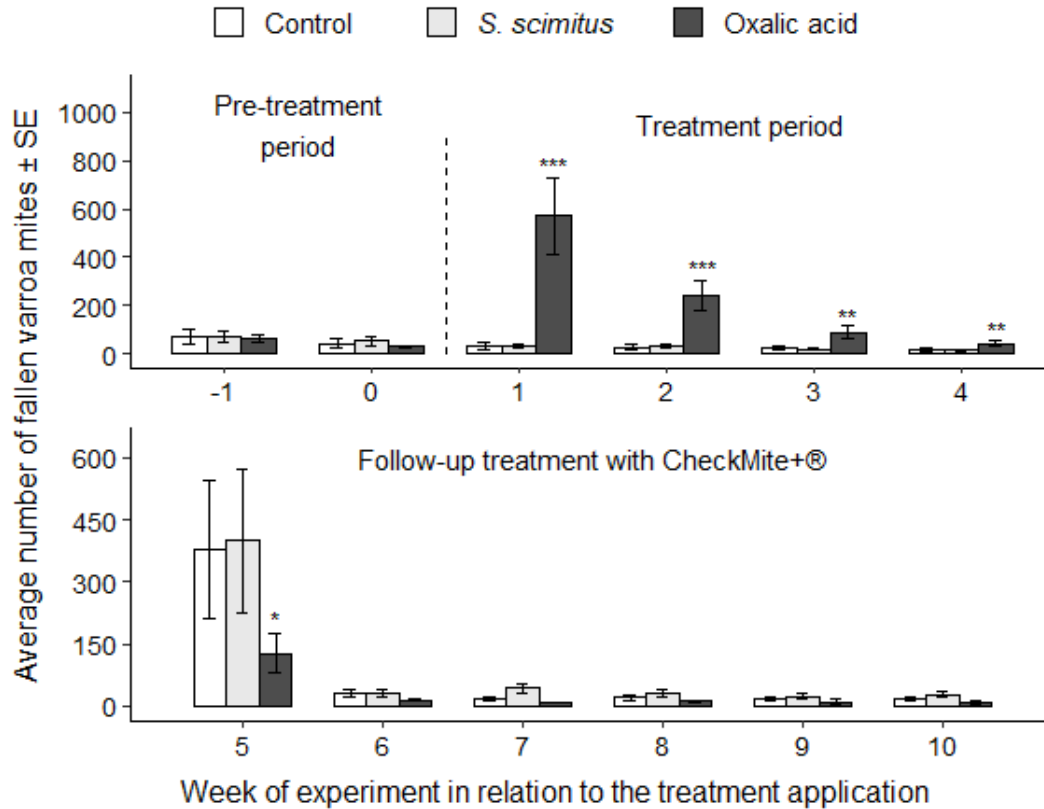


**Figure 11. Average ( $\pm$  SE) weekly number of fallen varroa mites in honey bee colonies before and during the fall treatment period, as well as during the follow-up treatment with Apivar®.** The effect of two rates (low = 6,250 mites/colony ; high = 12,500 mites/colony) of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* was compared to that of untreated colonies (control) and Thymovar®. The application of treatments was made on September 11, 2017 (week 0), in Quebec (Canada). Within each week, asterisks indicate significant differences (\*  $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; Repeated measures ANOVA followed by contrasts).

**Table 6. Effectiveness of two rates (low = 6,250 mites/colony ; high = 12,500 mites/colony) of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* to reduce varroa mite populations in honey bee colonies during fall, in comparison with untreated colonies (control) and Thymovar®, and total numbers of fallen varroa mites used to calculate these (mean  $\pm$  SE).** Treatment took place on September 11, 2017, in Quebec (Canada).

Treatment	n	Total number of fallen varroa mites			Effectiveness (%)
		Before treatment (3 weeks)	During treatment (5 weeks)	During follow-up treatment (6 weeks)	
Control (untreated)	7	97 $\pm$ 30	237 $\pm$ 97	1110 $\pm$ 349	16.5 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup>
<i>S. scimitus</i> (low rate)	6	101 $\pm$ 26	220 $\pm$ 66	1222 $\pm$ 371	15.4 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>
<i>S. scimitus</i> (high rate)	7	82 $\pm$ 28	220 $\pm$ 83	983 $\pm$ 340	18.6 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>
Thymovar®	6	69 $\pm$ 20	343 $\pm$ 90	184 $\pm$ 34	64.7 $\pm$ 6.6 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Means followed by different letters are significantly different at  $\alpha = 0.05$  (ANOVA followed by contrasts).



**Figure 12. Average ( $\pm$  SE) weekly number of fallen varroa mites in honey bee colonies before and after the application of complementary varroa treatments (November 13, 2017; week 0) in Quebec Canada, as well as during a follow-up treatment with CheckMite+® (April 24, 2018; week 5). The effect the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* ( $\pm$  6,500 mites/colony) was compared to that of untreated colonies (control) and oxalic acid. Within each week, asterisks indicate significant differences (\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; Repeated measures ANOVA followed by contrasts).**

**Table 7. Effectiveness of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* ( $\pm$  6 250 mites/colony) to reduce varroa mite populations in honey bee colonies in late fall, in comparison with untreated colonies (control) and oxalic acid, and total numbers of fallen varroa mites used to calculate these (mean  $\pm$  SE). Treatment took place on September 11, 2017, in Quebec (Canada). Means followed by different letters are significantly different at  $\alpha = 0.05$  (ANOVA followed by contrasts).**

Treatment	n	Total number of fallen varroa mites			Effectiveness (%)
		Before treatment (2 weeks)	During treatment (4 weeks)	During follow-up treatment (6 weeks)	
Control (untreated)	7	111 $\pm$ 50	93 $\pm$ 42	477 $\pm$ 175	14.6 $\pm$ 2.4 <sup>a</sup>
<i>S. scimitus</i>	7	119 $\pm$ 40	94 $\pm$ 20	556 $\pm$ 202	20.0 $\pm$ 4.7 <sup>a</sup>
Oxalic acid	7	93 $\pm$ 20	941 $\pm$ 251	180 $\pm$ 65	82.1 $\pm$ 6.2 <sup>b</sup>

## **Chapitre 4 : Conclusion générale**



La lutte contre *V. destructor* est l'un des défis les plus importants auxquels les apiculteurs doivent faire face à l'heure actuelle. La lutte biologique contre le parasite est d'autant plus difficile si on considère les conditions physiques particulières de la ruche, le cycle de développement complexe du varroa et les comportements hygiéniques des abeilles mellifères pour se protéger des pathogènes. La réalisation de ce projet de recherche a permis d'étudier certains paramètres de l'écologie de l'acarien prédateur *S. scimitus* lorsqu'il est introduit dans une colonie d'abeilles dans un contexte de lutte biologique contre le varroa. La varroase étant actuellement la problématique sanitaire la plus importante et la plus dommageable en apiculture, il va de soi que le développement de méthodes de lutte alternative contre le parasite constitue une des priorités de recherche du secteur apicole. L'idée d'utiliser un agent de lutte biologique capable de s'attaquer au parasite est d'autant plus attrayante puisqu'elle représente une alternative à l'utilisation d'acaricides chimiques responsables de nombreux maux. Ainsi, les premières observations effectuées par le Niagara Beeway (Ontario) – relatant l'efficacité prometteuse du nouvel agent de lutte à contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles – nous ont tout de suite interpellés. Si cet acarien prédateur s'était avéré aussi efficace que ces observations préliminaires le laissaient croire, l'utilisation de *S. scimitus* aurait représenté une solution durable au contrôle de la varroase, tout en étant sécuritaire pour les abeilles et les apiculteurs et plus respectueuse de l'environnement.

Plusieurs aspects de la biologie et de l'écologie du prédateur dans un contexte apicole devaient d'abord être évalués avant de déterminer son efficacité en ruche. Ainsi, nous devions d'abord nous assurer que le prédateur ne représentait pas une menace de prédation pour le couvain d'abeilles. En effet, considérant leur écologie, l'introduction de tout acarien prédateur généraliste s'accompagne d'un risque de prédation particulièrement élevé pour les œufs d'abeille. D'autre part, puisque les conditions à l'intérieur de la ruche sont beaucoup plus complexes qu'en laboratoire, il nous a semblé judicieux d'effectuer des essais de prédation selon les deux modalités. Notre première hypothèse stipulant que l'utilisation de *S. scimitus* pour lutter contre le varroa – en ruche – ne pose pas de risque de prédation pour le couvain d'abeilles a été confirmée. Nos essais en laboratoire ont d'abord démontré que le prédateur affamé est capable de s'attaquer à tous les stades de développement de l'abeille, dans des conditions très restrictives. Toutefois, ces conditions ne reflètent pas la complexité d'une ruche. L'absence apparente de prédation du couvain par le prédateur lorsque ce dernier est introduit dans la ruche est donc un résultat beaucoup plus probant et vraisemblable. Deux facteurs sont vraisemblablement responsables des résultats obtenus, soit la protection du couvain par les abeilles ouvrières et la diversité de proies présentes dans la ruche. D'ailleurs, le fait que le prédateur s'attaque au couvain seulement en laboratoire, et non en ruche, laisse présager que la même chose pourrait se produire avec le varroa. Ici, la présence de proies alternatives dans les ruches semble donc être bénéfique pour empêcher la prédation du couvain par le prédateur, mais pourrait également entraver l'efficacité de ce dernier à cibler les varroas.

Considérant le cycle de vie complexe du varroa, un autre paramètre important à considérer pour un contrôle efficace du parasite était le potentiel de prédation de *S. scimitus* envers les varroas phorétiques. Bien que l'étude de Rangel et Ward (2018) ait récemment démontré la capacité du prédateur à s'attaquer aux varroas libres en laboratoire, il ne s'agit pas ici d'une garantie que cette prédation se produira également en ruche. En outre, il s'avérait judicieux d'effectuer des essais sur le stade du varroa pour lequel la prédation par *S. scimitus* représente le potentiel de lutte biologique le plus élevé. Suite à nos essais, notre hypothèse appuyant le potentiel du prédateur à s'attaquer aux varroas phorétiques a néanmoins été infirmée. Ici, l'incapacité de l'agent de lutte à s'attaquer aux varroas parasitant les abeilles adultes suggère fortement son inefficacité à contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles. Il s'agit, par conséquent, d'un aspect essentiel à la compréhension de l'écologie de *S. scimitus* en ruche et de son rôle d'agent de lutte biologique contre le varroa.

Malgré les soupçons d'inefficacité découlant des précédents résultats, les essais sur le terrain demeuraient assurément une étape essentielle à l'achèvement de ce travail. L'objectif, ici, était d'évaluer l'efficacité du prédateur à contrôler les populations de varroas dans les colonies d'abeilles domestiques à l'automne et de comparer cette efficacité à celle d'acaricides biologiques fréquemment utilisés en apiculture. Notre hypothèse de départ, basée sur certaines observations optimistes effectuées ailleurs au Canada, stipulait que l'introduction du prédateur en automne permettrait de réduire les populations de varroas dans les colonies d'abeilles, selon la dose et la méthode d'introduction actuellement recommandées. De toute évidence, l'inefficacité du prédateur dans les conditions testées est suffisamment probante pour infirmer cette dernière hypothèse. Nos résultats d'inefficacités sont d'ailleurs corroborés par quelques autres études sur le sujet (Rangel et Ward, 2018; Sagili 2014).

Les travaux effectués dans le cadre de ce projet de maîtrise ont considérablement contribué à l'avancement des connaissances concernant l'utilisation de *S. scimitus* en apiculture. Par exemple, nous savons maintenant que l'introduction du prédateur en ruche ne représente pas un danger en soi, pour les abeilles. Le problème réside plutôt dans son inefficacité comme traitement anti-varroa. En effet, il est important de rappeler qu'un traitement efficace des colonies d'abeilles contre le parasite fait partie des pratiques apicoles essentielles au maintien de la santé et à la survie des colonies. En outre, malgré l'intérêt croissant de l'utilisation de *S. scimitus* comme agent de lutte biologique contre le varroa, aucune preuve scientifique ne justifie jusqu'à maintenant son emploi. Toutefois, bien que nos conclusions soient contraires à nos attentes initiales, notre étude profitera tout de même au secteur apicole. En effet, plutôt que de confirmer l'efficacité d'un nouvel agent de lutte contre le varroa, notre étude permettra sans doute d'éviter les conséquences fâcheuses liées à l'utilisation d'un traitement anti-varroa non efficace auprès des apiculteurs désirant utiliser le produit. De plus, puisque la littérature sur le sujet est plutôt limitée, la publication de nos travaux dans deux journaux scientifiques fournira des preuves expérimentales valables pour contester l'efficacité du prédateur comme traitement anti-varroa. Ce

faisant, les futurs efforts de recherche pourront se concentrer sur d'autres stratégies de lutte biologique potentielles contre le parasite ou de nouvelles utilisations de *S. scimitus* en apiculture (ex. lutte contre le petit coléoptère de la ruche ou la fausse-teigne).

De toute évidence, les prédateurs généralistes ne sont pas les meilleurs candidats pour lutter contre le varroa, vu l'impossibilité à s'attaquer aux œufs et aux larves du parasite qui se trouvent dans le couvain operculé, leur risque de prédation des œufs d'abeilles et leur grande sensibilité aux conditions environnementales. En outre, certains autres agents de lutte, tels que les champignons et autres organismes entomopathogènes pouvant être propagés par contact (ex. *Bacillus thuringiensis*, protozoaires, nématodes), constituent sans doute des candidats mieux adaptés au combat vu leur spécificité et leur potentiel d'infection connu envers certains acariens mésostigmates (Chandler et al. 2001). D'autre part, l'utilisation d'agents de lutte appropriés dont l'efficacité a été prouvée est d'une importance capitale non seulement pour préserver la santé des colonies d'abeilles, mais aussi pour limiter la perception négative des apiculteurs envers la lutte biologique. En effet, la confiance des apiculteurs vis-à-vis l'utilisation d'organismes auxiliaires pourrait être mise à rude épreuve advenant le cas où la stratégie de lutte conseillée produisait des résultats dévastateurs pour leurs colonies - et potentiellement pour celles de leurs voisins via la dérive d'abeilles parasitées d'un rucher à l'autre. Cette situation n'est évidemment pas souhaitable considérant que la lutte intégrée contre la varroase constitue actuellement la meilleure stratégie de contrôle de la maladie.

À la lumière des travaux de recherche effectués, l'efficacité de *S. scimitus* comme méthode de lutte biologique contre le varroa s'avère hautement improbable. En effet, la diversité des expériences effectuées dans cette étude, allant du laboratoire à la ruche et de l'évaluation des risques à l'efficacité sur le terrain, confère l'avantage d'une compréhension étendue du thème étudié. À mon avis, nos observations et résultats expérimentaux reflètent fidèlement le potentiel du prédateur dans cette lutte antiparasitaire difficile. Une des principales raisons justifiant cette position est l'incompatibilité de *S. scimitus* avec les principes actuels de lutte intégrée contre la varroase qui recommandent l'utilisation ponctuelle d'acaricides chimiques lorsque le niveau d'infestation le justifie. En effet, *S. scimitus* est un acarien, tout comme le varroa, ce qui le rend vulnérable aux acaricides apicoles utilisés. Actuellement, même la régie apicole biologique requiert l'utilisation judicieuse d'acaricides, tels que les acides organiques ou le thymol. Évidemment, pour les plus optimistes, certaines pistes pourraient encore être explorées concernant, par exemple, l'utilisation du prédateur plus tôt en saison ou à des doses plus élevées. Toutefois, il serait surprenant que le prédateur puisse atteindre un niveau d'efficacité suffisamment élevée pour remplacer l'utilisation d'acaricides chimiques. La fiabilité de l'efficacité du traitement malgré les conditions variables rencontrées dans la ruche (diversités de proies disponibles, température, humidité, présence de résidus d'acaricides, etc.) est également un facteur à considérer.

# Bibliographie

- Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA). (2010). Décision d'homologation RD2010-12: Acide oxalique dihydraté. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Repéré à [http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2011/sc-hc/H113-25-2010-12-fra.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2011/sc-hc/H113-25-2010-12-fra.pdf).
- Agriculture et Agroalimentaire Canada. (2016). Aperçu statistique de l'industrie apicole canadienne et contribution économique des services de pollinisation rendus par les abeilles domestiques pour 2013 - 2014. Repéré à <http://www5.agr.gc.ca/fra/industrie-marches-et-commerce/statistiques-et-information-sur-les-marches/par-produit-secteur/industrie-horticole/rapports-sur-l-industrie-horticole/apercu-statistique-de-lindustrie-apicole-canadienne-et-contribution-economique-des-services-de-pollinisation-rendus-par-les-abeilles-domestiques-pour-2013-2014/?id=1453219857143#a5.3>
- Al Naggar, Y., Tan, Y., Rutherford, C., et al. (2015). Effects of treatments with Apivar® and Thymovar® on *V. destructor* populations, virus infections and indoor winter survival of Canadian honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *J Apic Res*, 54(5), 548-554. doi:10.1080/00218839.2016.1186917
- Al Toufaily, H., Scandian, L., & Ratnieks, F. L. W. (2015). Towards integrated control of varroa: 2) comparing application methods and doses of oxalic acid on the mortality of phoretic *Varroa destructor* mites and their honey bee hosts. *J Apic Res*, 54(2), 108-120. doi:10.1080/00218839.2015.1106777
- Alayrangues, J., Hotier, L., Massou, I., et al. (2016). Prolonged effects of in-hive monoterpenoids on the honey bee *Apis mellifera*. *Ecotoxicology*, 25(5), 856-862. doi:10.1007/s10646-016-1642-x
- Ali, O., Dunne, R., & Brennan, P. (1999). Effectiveness of the predatory mite *Hypoaspis miles* (Acari : Mesostigmata : Hypoaspidae) in conjunction with pesticides for control of the mushroom fly *Lycoriella solani* (Diptera : Sciaridae). *Exp Appl Acarol*, 23(1), 65-77. doi:10.1023/a:1006154008192
- Ali, W., George, D. R., Shiel, R. S., et al. (2012). Laboratory screening of potential predators of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and assessment of *Hypoaspis miles* performance under varying biotic and abiotic conditions. *Vet Parasitol*, 187(1-2), 341-344. doi:10.1016/j.vetpar.2012.01.014
- Alquisira-Ramirez, E., Paredes-Gonzalez, J. R., Hernandez-Velazquez, V. M., et al. (2014). *In vitro* susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. *Apidologie*, 45(6), 707-718. doi:10.1007/s13592-014-0288-z
- Amdam, G. V., Hartfelder, K., Norberg, K., et al. (2004). Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera : Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari : Varroidae): A factor in colony loss during overwintering? *J Econ Entomol*, 97(3), 741-747. doi:10.1603/0022-0493(2004)097[0741:apiwhb]2.0.co;2
- Amiri, E., Meixner, M. D., & Kryger, P. (2016). Deformed wing virus can be transmitted during natural mating in honey bees and infect the queens. *Scientific Reports*, 6. doi:10.1038/srep33065
- Anderson, D. L., & Trueman, J. W. H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol*, 24(3), 165-189. doi:10.1023/a:1006456720416
- Anjum, S. I., Ayaz, S., Shah, A. H., et al. (2015). Controlling honeybee pathogen by using neem and Barbaka plant extracts. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 29(5), 901-906. doi:10.1080/13102818.2015.1051493

- Annoscia, D., Del Piccolo, F., Covre, F., et al. (2015). Mite infestation during development alters the in-hive behaviour of adult honeybees. *Apidologie*, 46(3), 306-314. doi:10.1007/s13592-014-0323-0
- Annoscia, D., Del Piccolo, F., & Nazzi, F. (2012). How does the mite *Varroa destructor* kill the honeybee *Apis mellifera*? Alteration of cuticular hydrocarbons and water loss in infested honeybees. *J Insect Physiol*, 58(12), 1548-1555. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.09.008
- Ayoub, Z., Ahmed, D., Abdulla, M., et al. (2015). Impact of varroa mite infestation on the mandibular and hypopharyngeal glands of honey bee workers. *Acarina*, 23(1), 92-97.
- Barbosa, M. F. C., & de Moraes, G. J. (2016). Potential of astigmatid mites (Acari: Astigmatina) as prey for rearing edaphic predatory mites of the families Laelapidae and Rhodacaridae (Acari: Mesostigmata). *Exp Appl Acarol*, 69(3), 289-296. doi:10.1007/s10493-016-0043-4
- Berndt, O., Meyhofer, R., & Poehling, H. M. (2003). Propensity towards cannibalism among *Hypoaspis aculeifer* and *H. miles*, two soil-dwelling predatory mite species. *Exp Appl Acarol*, 31(1-2), 1-14. doi:10.1023/b:appa.0000005108.72167.74
- Berndt, O., Meyhofer, R., & Poehling, H. M. (2004). The edaphic phase in the ontogenesis of *Frankliniella occidentalis* and comparison of *Hypoaspis miles* and *Hypoaspis aculeifer* as predators of soil-dwelling thrips stages. *Biol Control*, 30(1), 17-24. doi:10.1016/j.biocontrol.2003.09.009
- Berndt, O., Poehling, H. M., & Meyhofer, R. (2004). Predation capacity of two predatory laelapid mites on soil-dwelling thrips stages. *Entomol Exp Appl*, 112(2), 107-115. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00185.x
- Berry, J. A., Hood, W. M., Pietravalle, S., et al. (2013). Field-Level Sublethal Effects of Approved Bee Hive Chemicals on Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Plos One*, 8(10) : e76536. doi:10.1371/journal.pone.0076536
- Boi, M., Serra, G., Colombo, R., et al. (2016). A 10 year survey of acaricide residues in beeswax analysed in Italy. *Pest Manage Sci*, 72(7), 1366-1372. doi:10.1002/ps.4161
- Bonvehi, J. S., Coll, F. V., & Martinez, J. A. R. (2016). Residues of essential oils in honey after treatments to control *Varroa destructor*. *J Essent Oil Res*, 28(1), 22-28. doi:10.1080/10412905.2015.1076741
- Boot, W. J., Calis, J. N. M., & Beetsma, J. (1993). Invasion of *Varroa jacobsoni* into honey bee brood cells - a matter of chance or choice. *J Apic Res*, 32(3-4), 167-174. doi: 10.1080/00218839.1993.11101302
- Boucher, C., Desjardins, F., Giovenazzo, P., et al. (2011). *Gestion optimale du rucher (2e ed.)*. Québec: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ).
- Bowen-Walker, P. L., & Gunn, A. (2001). The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomol Exp Appl*, 101(3), 207-217. doi:10.1046/j.1570-7458.2001.00905.x
- Cabras, P., Floris, I., Garau, V. L., et al. (1997). Fluvalinate content of Apistan® strips during treatment and efficacy in colonies containing sealed worker brood. *Apidologie*, 28(2), 91-96. doi:10.1051/apido:19970206

- Cabrera, A. R., Cloyd, R. A., & Zaborski, E. R. (2005). Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari : Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera : Sciaridae), potworms (Oligochaeta : Enchytraeidae) or *Sancassania* aff. *sphaerogaster* (Acari : Acaridae) as the sole food source. *Exp Appl Acarol*, 36(1-2), 71-81. doi:10.1007/s10493-005-0242-x
- Carayon, J. L., Tene, N., Bonnafe, E., et al. (2014). Thymol as an alternative to pesticides: persistence and effects of Apilife Var on the phototactic behavior of the honeybee *Apis mellifera*. *Environ Sci Pollut Res*, 21(7), 4934-4939. doi:10.1007/s11356-013-2143-6
- Castilho, R. C., de Moraes, G. J., Silva, E. S., et al. (2009). The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Int J Pest Manage*, 55(3), 181-185. doi:10.1080/09670870902725783
- Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. (2016). Rapport des activités 2015-2016. Repéré à [http://www.crsad.qc.ca/uploads/tx\\_centrecherche/rapport\\_des\\_activites\\_2015-2016.pdf](http://www.crsad.qc.ca/uploads/tx_centrecherche/rapport_des_activites_2015-2016.pdf)
- Chambers, R. J., Wright, E. M., & Lind, R. J. (1993). Biological control of glasshouse sciarid flies (*Bradysia* spp.) with the predatory mite, *Hypoaspis miles*, on cyclamen and poinsettia. *Biocontrol Sci Technol*, 3(3), 285-293. doi:10.1080/09583159309355283
- Chandler, D., Sunderland, K. D., Ball, B. V., et al. (2001). Prospective biological control agents of *Varroa destructor* n. sp., an important pest of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Biocontrol Sci Technol*, 11(4), 429-448.
- Charpentier, G., Vidau, C., Ferdy, J.-B., et al. (2014). Lethal and sub-lethal effects of thymol on honeybee (*Apis mellifera*) larvae reared in vitro. *Pest Manage Sci*, 70(1), 140-147. doi:10.1002/ps.3539
- Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. Dans K. Maramorosch, A. J. Shatkin, & F. A. Murphy (Ed.), *Advances in Virus Research* (Vol. 70, pp. 33-80).
- Chopra, S. S., Bakshi, B. R., & Khanna, V. (2015). Economic Dependence of US Industrial Sectors on Animal-Mediated Pollination Service. *Environ Sci Technol*, 49(24), 14441-14451. doi:10.1021/acs.est.5b03788
- Collins, A. M., & Pettis, J. S. (2001). Effect of varroa infestation on semen quality. *Am. Bee J*, 141(8), 590-593.
- Dahlgren, L., Johnson, R. M., Siegfried, B. D., et al. (2012). Comparative Toxicity of Acaricides to Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Workers and Queens. *J Econ Entomol*, 105(6), 1895-1902. doi:10.1603/ec12175
- Dainat, B., Evans, J. D., Chen, Y. P., et al. (2012). Dead or Alive: Deformed Wing Virus and *Varroa destructor* Reduce the Life Span of Winter Honeybees. *Appl Environ Microbiol*, 78(4), 981-987. doi:10.1128/aem.06537-11
- Danka, R. G., Harris, J. W., & Dodds, G. E. (2016). Selection of VSH-derived "Pol-line" honey bees and evaluation of their Varroa-resistance characteristics. *Apidologie*, 47(3), 483-490. doi:10.1007/s13592-015-0413-7
- de Guzman, L. I., Rinderer, T. E., & Stelzer, J. A. (1997). DNA evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochem Genet*, 35(9-10), 327-335. doi:10.1023/a:1021821821728

- De Jong, D. (1997). Mites: varroa and other parasites of brood. Dans R. A. Morse & K. Flottum (Éd.), Honey bee pests, predators and diseases (3ième ed., pp. 278-327). Medina: A. I. Root Company.
- de Miranda, J. R., Cordoni, G., & Budge, G. (2010). The acute bee paralysis virus–Kashmir bee virus–Israeli acute paralysis virus complex. *J Invertebr Pathol*, 103, S30-S47. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.014
- de Miranda, J. R., & Genersch, E. (2010). Deformed wing virus. *J Invertebr Pathol*, 103, S48-S61. doi: 10.1016/j.jip.2009.06.012
- DeGrandi-Hoffman, G., Ahumada, F., Curry, R., et al. (2014). Population growth of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in commercial honey bee colonies treated with beta plant acids. *Exp Appl Acarol*, 64(2), 171-186. doi:10.1007/s10493-014-9821-z
- DeGrandi-Hoffman, G., Ahumada, F., Danka, R., et al. (2017). Population Growth of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Colonies of Russian and Unselected Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Stocks as Related to Numbers of Foragers With Mites. *J Econ Entomol*, 110(3), 809-815. doi:10.1093/jee/tox069
- DeGrandi-Hoffman, G., Ahumada, F., Zazueta, V., et al. (2016). Population growth of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies is affected by the number of foragers with mites. *Exp Appl Acarol*, 69(1), 21-34. doi:10.1007/s10493-016-0022-9
- DeGrandi-Hoffman, G., & Chen, Y. P. (2015). Nutrition, immunity and viral infections in honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 170-176. doi:10.1016/j.cois.2015.05.007
- DeGrandi-Hoffman, G., & Curry, R. (2004). A mathematical model of varroa mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and honeybee (*Apis mellifera* L.) population dynamics. *Int J Acarol*, 30(3), 259-274. doi: 10.1080/01647950408684393
- De Jong, D., De Jong, P. H., & Goncalves, L. S. (1982). Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *J Apic Res*, 21(3), 165-167. doi: 10.1080/00218839.1982.11100535
- De Jong, D., Morse, R. A., & Eickwort, G. C. (1982). Mite pests of honey bees. *Annu Rev Entomol*, 27, 229-252. doi: 10.1146/annurev.en.27.010182.001305
- Delaplane, K. S., Berry, J. A., Skinner, J. A., et al. (2005). Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *J Apic Res*, 44(4), 157-162. doi: 10.1080/00218839.2005.11101171
- Desai, S. D., & Currie, R. W. (2016). Effects of Wintering Environment and Parasite-Pathogen Interactions on Honey Bee Colony Loss in North Temperate Regions. *Plos One*, 11(7): e0159615. doi:10.1371/journal.pone.0159615
- Desjardins, F., Gauvin, Y., Houle, É., et al. (2006). *Trousse d'information et de démarrage : apiculture*. Québec: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ).
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., et al. (2013). Standard methods for varroa research. *J Apic Res*, 52(1), 1-54. doi:10.3896/ibra.1.52.1.09
- Dietemann, V., Pflugfelder, J., Anderson, D., et al. (2012). *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *J Apic Res*, 51(1), 125-132. doi:10.3896/ibra.1.51.1.15

- Donze, G., & Guerin, P. M. (1994). Behavioral attributes and parental care of varroa mites parasitizing honeybee brood. *Behav Ecol Sociobiol*, 34(5), 305-319. doi:10.1007/bf00197001
- Duay, P., De Jong, D., & Engels, W. (2003). Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, 34(1), 61-65. doi:10.1051/apido:2002052
- Eccles, L., Kempers, M., Mijares Gonzalez, R., et al. (2016). Pratiques de gestion optimales canadiennes pour la santé des abeilles mellifères. Table ronde sur la santé des abeilles. Repéré à <https://www.agrireseau.net/apiculture/documents/93584/pratiques-de-gestion-optimales-canadiennes-pour-la-sante-des-abeilles-melliferes>
- Ellis, M. B., Nicolson, S. W., Crewe, R. M., et al. (2008). Hygropreference and brood care in the honeybee (*Apis mellifera*). *J Insect Physiol*, 54(12), 1516-1521. doi: 10.1016/j.jinsphys.2008.08.011
- Elzen, P. J., Baxter, J. R., Spivak, M., et al. (2000). Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie*, 31(3), 437-441. doi:10.1051/apido:2000134
- Elzen, P. J., Eischen, F. A., Baxter, J. R., et al. (1999). Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie*, 30, 13-18. doi: 10.1051/apido:19990102
- Elzen, P. J., Westervelt, D., & Lucas, R. (2004). Formic acid treatment for control of *Varroa destructor* (Mesostigmata : Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) under southern United States conditions. *J Econ Entomol*, 97(5), 1509-1512. doi: 10.1603/0022-0493-97.5.1509
- Emsen, B., Guzman-Novoa, E., & Kelly, P. G. (2014). Honey production of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with high and low *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation rates in eastern Canada. *Can Entomol*, 146(2), 236-240. doi:10.4039/tce.2013.68
- Enkegaard, A., Sardar, M. A., & Brodsgaard, H. F. (1997). The predatory mite *Hypoaspis miles*: Biological and demographic characteristics on two prey species, the mushroom sciarid fly, *Lycoriella solani*, and the mould mite, *Tyrophagus putrescentiae*. *Entomol Exp Appl*, 82(2), 135-146. doi:10.1046/j.1570-7458.1997.00123.x
- Fagan, L. L., Nelson, W. R., Meenken, E. D., et al. (2012). Varroa management in small bites. *J Appl Entomol*, 136(6), 473-475. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01666.x
- Fahrenholz, L., Lamprecht, I., & Schrick, B. (1989). Thermal investigations of a honey bee colony thermoregulation of the hive during summer and winter and heat-production of members of different bee castes. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, 159(5), 551-560. doi:10.1007/bf00694379
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2016). FAOSTAT. Repéré à <http://faostat.fao.org>
- Ferland, J. (2017). Enquête sur la mortalité hivernale des colonies d'abeilles au Québec en 2016. Québec : Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ).



- Ferland, J., Nasr, M., Wilson, G., et al. (2017). Canadian Association of Professional Apiculturists Statement on Honey Bee Wintering Losses in Canada (2017). Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA). Repré à <http://www.capabees.com/shared/2016/07/2017-CAPA-Statement-on-Colony-Losses-r.pdf>
- Floris, I., Satta, A., Cabras, P., et al. (2004). Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: Effectiveness, persistence, and residues. *J Econ Entomol*, 97(2), 187-191. doi:10.1603/0022-0493-97.2.187
- Freire, R. A. P., & De Moraes, G. J. (2007). Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae). *Systematic and Applied Acarology*, 12(2), 117. doi:10.11158/saa.12.2.4
- Frey, E., & Rosenkranz, P. (2014). Autumn Invasion Rates of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) Into Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies and the Resulting Increase in Mite Populations. *J Econ Entomol*, 107(2), 508-515. doi:10.1603/ec13381
- Frey, E., Schnell, H., & Rosenkranz, P. (2011). Invasion of *Varroa destructor* mites into mite-free honey bee colonies under the controlled conditions of a military training area. *J Apic Res*, 50(2), 138-144. doi:10.3896/ibra.1.50.2.05
- Fries, I. (1991). Treatment of sealed honey-bee brood with formic acid for control of *Varroa jacobsoni*. *Am. Bee J*, 131(5), 313-314.
- Fukuda, H., & Ohtani, T. (1977). Survival and life-span of drone honeybees. *Res Popul Ecol*, 19(1), 51-68. doi:10.1007/bf02510939
- Gao, Y., & Wu, S. (2015). Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* and *Neoseiulus barkeri* for biological control of thrips on greenhouse cucumbers. *Biocontrol Sci Technol*, 25(2), 244-244. doi:10.1080/09583157.2014.970031
- Genersch, E., & Aubert, M. (2010). Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Vet Res*, 41(6). doi:10.1051/vetres/2010027
- Giovenazzo, P. (2011). Application d'une stratégie de lutte intégrée contre le parasite *Varroa destructor* dans les colonies d'abeilles mellifères du Québec (Thèse de doctorat : Université de Montréal). Repéré à [https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/10492/Giovenazzo\\_Pierre\\_2011\\_these.pdf?sequence=4](https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/10492/Giovenazzo_Pierre_2011_these.pdf?sequence=4)
- Giovenazzo, P., & Dubreuil, P. (2011). Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Exp Appl Acarol*, 55(1), 65-76. doi:10.1007/s10493-011-9447-3
- Gonzalez-Gomez, R., Otero-Colina, G., Villanueva-Jimenez, J. A., et al. (2012). Repellency of the oily extract of neem seeds (*Azadirachta indica*) against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Exp Appl Acarol*, 56(3), 261-270. doi:10.1007/s10493-012-9517-1
- Gregorc, A. (2012). A clinical case of honey bee intoxication after using coumaphos strips against *Varroa destructor*. *J Apic Res*, 51(1), 142-143. doi:10.3896/ibra.1.51.1.19

- Gregorc, A., & Smodis Skerl, M. I. (2007). Toxicological and immunohistochemical testing of honeybees after oxalic acid and rotenone treatments. *Apidologie*, 38(3), 296-305. doi:10.1051/apido:2007014
- Hamiduzzaman, M. M., Emsen, B., Hunt, G. J., et al. (2017). Differential Gene Expression Associated with Honey Bee Grooming Behavior in Response to *Varroa* Mites. *Behav Genet*, 47(3), 335-344. doi:10.1007/s10519-017-9834-6
- Hamiduzzaman, M. M., Sinia, A., Guzman-Novoa, E., et al. (2012). Entomopathogenic fungi as potential biocontrol agents of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor*, and their effect on the immune response of honey bees (*Apis mellifera* L.). *J Invertebr Pathol*, 111(3), 237-243. doi:10.1016/j.jip.2012.09.001
- Han, F., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2012). From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecol Evol*, 2(8), 1949-1957. doi:10.1002/ece3.312
- Human, H., Brodschneider, R., Dietemann, V., et al. (2013). Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *J Apic Res*, 52(4) : 1-53. doi:10.3896/ibra.1.52.4.10
- Ibrahim, A., & Spivak, M. (2006). The relationship between hygienic behavior and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37(1), 31-40. doi:10.1051/apido:2005052
- Ifantidis, M. D. (1983). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J Apic Res*, 22(3), 200-206. doi: 10.1080/00218839.1983.11100588
- Institut de la statistique du Québec. (2015). Statistiques principales relatives au miel, par regroupement de régions administratives, Québec, 2015. Repéré à [http://www.stat.gouv.qc.ca/docshmi/statistiques/agriculture/apiculture-miel/h1\\_2015.htm](http://www.stat.gouv.qc.ca/docshmi/statistiques/agriculture/apiculture-miel/h1_2015.htm)
- Institut de la statistique du Québec. (2016). Statistiques relatives à la location de colonies à des fins de pollinisation selon le type de culture, Québec, 2015. Repéré à [http://www.stat.gouv.qc.ca/docs-hmi/statistiques/agriculture/apiculture-miel/h7\\_2015.htm](http://www.stat.gouv.qc.ca/docs-hmi/statistiques/agriculture/apiculture-miel/h7_2015.htm)
- Jess, S., & Kilpatrick, M. (2000). An integrated approach to the control of *Lycoriella solani* (Diptera : Sciaridae) during production of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*). *Pest Manage Sci*, 56(5), 477-485. doi:10.1002/(sici)1526-4998(200005)56:5<477::aid-ps161>3.3.co;2-k
- Jess, S., & Schweizer, H. (2009). Biological control of *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae) in commercial mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation: a comparison between *Hypoaspis miles* and *Steinernema feltiae*. *Pest Manage Sci*, 65(11), 1195-1200. doi:10.1002/ps.1809
- Johnson, R. M. (2015). Honey Bee Toxicology. Dans M. R. Berenbaum (Éd.), *Annu Rev Entomol* (Vol. 60, pp. 415-434). Palo Alto: Annual Reviews.
- Johnson, R. M., Dahlgren, L., Siegfried, B. D., et al. (2013). Acaricide, Fungicide and Drug Interactions in Honey Bees (*Apis mellifera*). *Plos One*, 8(1) : e54092. doi:10.1371/journal.pone.0054092
- Jones, J. C., Myerscough, M. R., Graham, S., et al. (2004). Honey bee nest thermoregulation: Diversity promotes stability. *Science*, 305(5682), 402-404. doi:10.1126/science.1096340

- Kamler, M., Nesvorna, M., Stara, J., et al. (2016). Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Exp Appl Acarol*, 69(1), 1-9. doi:10.1007/s10493-016-0023-8
- Kang, Y., Blanco, K., Davis, T., et al. (2016). Disease dynamics of honeybees with *Varroa destructor* as parasite and virus vector. *Math Biosci*, 275, 71-92. doi:10.1016/j.mbs.2016.02.012
- Kanga, L. H. B., James, R. R., & Boucias, D. G. (2002). *Hirsutella thompsonii* and *Metarhizium anisopliae* as potential microbial control agents of *Varroa destructor*, a honey bee parasite. *J Invertebr Pathol*, 81(3), 175-184. doi:10.1016/s0022-2011(02)00177-5
- Kanga, L. H. B., Jones, W. A., & Gracia, C. (2006). Efficacy of strips coated with *Metarhizium anisopliae* for control of *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) in honey bee colonies in Texas and Florida. *Exp Appl Acarol*, 40(3-4), 249-258. doi:10.1007/s10493-006-9033-2
- Kirrane, M. J., de Guzman, L. I., Holloway, B., et al. (2015). Phenotypic and Genetic Analyses of the Varroa Sensitive Hygienic Trait in Russian Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Plos One*, 10(4) : e0116672. doi:10.1371/journal.pone.0116672
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., et al. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *P Roy Soc B-Biol Sci*, 274(1608), 303-313. doi:10.1098/rspb.2006.3721
- Koleoglu, G., Goodwin, P. H., Reyes-Quintana, M., et al. (2017). Effect of *Varroa destructor*, Wounding and Varroa Homogenate on Gene Expression in Brood and Adult Honey Bees. *Plos One*, 12(1): e0169669. doi:10.1371/journal.pone.0169669
- Kralj, J., Brockmann, A., Fuchs, S., et al. (2007). The parasitic mite *Varroa destructor* affects non-associative learning in honey bee foragers, *Apis mellifera* L. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, 193(3), 363-370. doi:10.1007/s00359-006-0192-8
- Kralj, J., & Fuchs, S. (2006). Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, 37(5), 577-587. doi:10.1051/apido:2006040
- Krantz, G. (1998). A new genus and two new species of hypoaspidine mites (Acari: Laelapidae) associated with Old World carpenter bees of the tribe Xylocopini (Hymenoptera: Apidae: Xylocopa). *Int J Acarol*, 24(4), 291-300. doi:10.1080/01647959808683595
- Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., et al. (2013). Widespread Occurrence of Chemical Residues in Beehive Matrices from Apiaries Located in Different Landscapes of Western France. *Plos One*, 8(6) : e67007. doi:10.1371/journal.pone.0067007
- Le Conte, Y., Ellis, M., & Ritter, W. (2010). Varroa mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41(3), 353-363. doi:10.1051/apido/2010017
- Leboeuf, A., Nasr, M., Ferland, J., et al. (2016). Rapport sur la mortalité hivernale de colonies d'abeilles au Canada (2016). Association canadienne des professionnels de l'apiculture (CAPA). Repéré à [https://www.agrireseau.net/documents/Document\\_93309.pdf](https://www.agrireseau.net/documents/Document_93309.pdf)
- Lee, K. V., Moon, R. D., Burkness, E. C., et al. (2010). Practical Sampling Plans for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies and Apiaries. *J Econ Entomol*, 103(4), 1039-1050. doi:10.1603/ec10037

- Lesna, I., Sabelis, M. W., Bolland, H. R., et al. (1995). Candidate natural enemies for control of *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari: Astigmata) in lily bulbs: Exploration in the field and pre-selection in the laboratory. *Exp Appl Acarol*, 19(11), 655-669. doi:10.1007/bf00145254
- Lesna, I., Sabelis, M. W., van Niekerk, T. G. C. M., et al. (2012). Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small 'laying hen' cages. *Exp Appl Acarol*, 58(4), 371-383. doi:10.1007/s10493-012-9596-z
- Leza, M. M., Llado, G., & Miranda-Chueca, M. A. (2015). Comparison of the efficacy of Apiguard (thymol) and Apivar (amitraz) in the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Span. J. Agric. Res*, 13(3), 5. doi:10.5424/sjar/2015133-6880
- Macedo, P. A., Wu, J., & Ellis, M. D. (2002). Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *J Apic Res*, 41(1-2), 3-7.
- Maggi, M. D., Damiani, N., Ruffinengo, S. R., et al. (2017). The susceptibility of *Varroa destructor* against oxalic acid: a study case. *Bull Insectol*, 70(1), 39-44.
- Maggi, M. D., Ruffinengo, S. R., Damiani, N., et al. (2009). First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos in Argentina. *Exp Appl Acarol*, 47(4), 317-320. doi: 10.1007/s10493-008-9216-0.
- Maggi, M. D., Ruffinengo, S. R., Mendoza, Y., et al. (2011). Susceptibility of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) to synthetic acaricides in Uruguay: *Varroa* mites' potential to develop acaricide resistance. *Parasitol Res*, 108(4), 815-821. doi:10.1007/s00436-010-2122-5
- Malek-Shahkoobi, S., Nemati, A., & Afshari, A. (2014). A new species of *Pseudoparasitus* Oudemans (Acari: Mesostigmata: Laelapidae) from Iran. *Journal of Crop Protection*, 3(2), 255-263.
- Martin, S. (1995). Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp Appl Acarol*, 19(4), 199-210. doi: 10.1007/BF00130823
- Martin, S. (1998). A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecol Model*, 109(3), 267-281. doi:10.1016/s0304-3800(98)00059-3
- Matheson, A. (1995). First documented findings of *Varroa jacobsoni* outside its presumed natural range. *Apiacta* 30, 1-8.
- McMahon, D. P., Natsopoulou, M. E., Doublet, V., et al. (2016). Elevated virulence of an emerging viral genotype as a driver of honeybee loss. *P Roy Soc B-Biol Sci*, 283(1833). doi:10.1098/rspb.2016.0811
- McMenamin, A. J., & Genersch, E. (2015). Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 121-129. doi:10.1016/j.cois.2015.01.015
- Medici, S. K., Maggi, M. D., Sarlo, E. G., et al. (2015). The presence of synthetic acaricides in beeswax and its influence on the development of resistance in *Varroa destructor*. *J Apic Res*, 54(3), 267-274. doi:10.1080/00218839.2016.1145407
- Meikle, W. G., Sammataro, D., Neumann, P., et al. (2012). Challenges for developing pathogen-based biopesticides against *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae). *Apidologie*, 43(5), 501-514. doi:10.1007/s13592-012-0118-0

- Mendyk, R. W. (2015). Preliminary Notes on the Use of the Predatory Soil Mite *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) as a Biological Control Agent for Acariasis in Lizards. *J. Herpetol. Med. Surg.* 2015;25(1-2): 24-27. doi: 10.5818/1529-9651-25.1.24.
- Milani, N. (1999). The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie*, 30(2-3), 229-234. doi:10.1051/apido:19990211
- Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). (2014). Calendrier des interventions pour le contrôle de la varroase dans un contexte de lutte intégrée. Gouvernement du Québec. Repéré à [https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Santeanimale/Reseauapicole/Varroase%20%20Grilles\\_comparatives%20pour%20les%20interventions\\_juillet2014.pdf](https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Santeanimale/Reseauapicole/Varroase%20%20Grilles_comparatives%20pour%20les%20interventions_juillet2014.pdf).
- Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). (2014). Calendrier de contrôle de la varroase. Gouvernement du Québec. Repéré à <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Santeanimale/Reseauapicole/VARROACalendrierdecontrole2014.pdf>.
- Mondet, F., Kim, S. H., de Miranda, J. R., et al. (2016). Specific Cues Associated With Honey Bee Social Defence against *Varroa destructor* Infested Brood. *Scientific Reports*, 6, 25444. doi:10.1038/srep25444
- Navajas, M., Migeon, A., Alaux, C., et al. (2008). Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection. *BMC Genomics*, 9, 11. doi:10.1186/1471-2164-9-301
- Navarro-Campos, C., Wackers, F. L., & Pekas, A. (2016). Impact of factitious foods and prey on the oviposition of the predatory mites *Gaeolaelaps aculeifer* and *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae). *Exp Appl Acarol*, 70(1), 69-78. doi:10.1007/s10493-016-0061-2
- Nazzi, F., Brown, S. P., Annoscia, D., et al. (2012). Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Path*, 8(6): e1002735. doi:10.1371/journal.ppat.1002735
- Nazzi, F., & Le Conte, Y. (2016). Ecology of *Varroa destructor*, the Major Ectoparasite of the Western Honey Bee, *Apis mellifera*. In M. R. Berenbaum (Éd.), *Annu Rev Entomol* (Vol. 61, pp. 417-432).
- Oldroyd, B. P. (1999). Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends Ecol Evol*, 14(8), 312-315. doi:10.1016/s0169-5347(99)01613-4
- Oudemans, A. C. (1904). On a new genus and species of parasitic acari. *Notes Leyden Museum*(24), 216-222.
- Pernal, S. F., & Clay, H. (2015). *Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique* (3ième ed.). Beaverlodge (Alberta): Association canadienne des professionnels de l'apiculture (CAPA).
- Pettis, J. S., Rice, N., Joselow, K., et al. (2016). Colony Failure Linked to Low Sperm Viability in Honey Bee (*Apis mellifera*) Queens and an Exploration of Potential Causative Factors. *Plos One*, 11(2) : e0147220. doi:10.1371/journal.pone.0147220
- Pettis, J. S., Shimanuki, H., & Feldlaufer, M. F. (1998). An assay to detect fluvalinate resistance in varroa mites. *Am. Bee J*, 138(7), 538-541.

- Piou, V., Tabart, J., Urrutia, V., et al. (2016). Impact of the Phoretic Phase on Reproduction and Damage Caused by *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) to Its Host, the European Honey Bee (*Apis mellifera* L.). Plos One, 11(4): e0153482. doi:10.1371/journal.pone.0153482
- Potts, S. G., Biesmeijer J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. Trends Ecol Evol, 25(6): 345-353. doi:10.1016/j.tree.2010.01.007
- Pouvreau, A. (1973). Les ennemis des bourdons. I. - étude d'une zoocénose : le nid de bourdons. Apidologie, 4(2), 103-148. doi: 10.1051/apido:19730202
- Prado Freire, R. A., de Moraes, G. J., Silva, E. S., et al. (2007). Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera : Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. Exp Appl Acarol, 42(2), 87-93. doi:10.1007/s10493-007-9075-0
- Prevention of honey bee colony losses (COLOSS). (2016). Honey bee viruses. Repéré à <http://www.coloss.org/beebook/II/virus/1/1>
- Prischmann, D. A., Knutson, E. M., Dashiell, K. E., et al. (2011). Generalist-feeding subterranean mites as potential biological control agents of immature corn rootworms. Exp Appl Acarol, 55(3), 233-248. doi:10.1007/s10493-011-9468-y
- Pritchard, D. J. (2016). Grooming by honey bees as a component of varroa resistant behavior. J Apic Res, 55(1), 38-48. doi:10.1080/00218839.2016.1196016
- Rademacher, E., Harz, M., & Schneider, S. (2015). The development of HopGuardA (R) as a winter treatment against *Varroa destructor* in colonies of *Apis mellifera*. Apidologie, 46(6), 748-759. doi:10.1007/s13592-015-0363-0
- Rahman, T., Spafford, H., & Broughton, S. (2011). Compatibility of spinosad with predaceous mites (Acari) used to control *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Pest Manage Sci, 67(8), 993-1003. doi:10.1002/ps.2144
- Rahman, T., Spafford, H., & Broughton, S. (2012). Use of spinosad and predatory mites for the management of *Frankliniella occidentalis* in low tunnel-grown strawberry. Entomol Exp Appl, 142(3), 258-270. doi:10.1111/j.1570-7458.2012.01221.x
- Ramsey, S. (2017). 2017 UMD Three Minute Thesis University of Maryland. [vidéo en ligne]. Repéré à <https://www.youtube.com/watch?v=Fyfyj-2O47Q>
- Rangel, J., & Tarry, D. R. (2015). The combined effects of miticides on the mating health of honey bee (*Apis mellifera* L.) queens. J Apic Res, 54(3), 275-283. doi:10.1080/00218839.2016.1147218
- Rangel, J., & Ward, L. (2018). Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*. J Apic Res, 57(3), 425-432. doi: 10.1080/00218839.2018.1457864.
- Razavi, S. M., Asadpour, M., Jafari, A., et al. (2015). The field efficacy of *Lepidium latifolium* and *Zataria multiflora* methanolic extracts against *Varroa destructor*. Parasitol Res, 114(11), 4233-4238. doi:10.1007/s00436-015-4661-2

- Read, S., Howlett, B. G., Donovan, B. J., et al. (2014). Culturing chelifers (Pseudoscorpions) that consume Varroa mites. *J Appl Entomol*, 138(4), 260-266. doi:10.1111/jen.12096
- Rinderer, T. E., Danka, R. G., Johnson, S., et al. (2014). Functionality of Varroa-Resistant Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) When Used for Western US Honey Production and Almond Pollination. *J Econ Entomol*, 107(2), 523-530. doi:10.1603/ec13419
- Ritter, W., & Akwatanakul, P. (2006). Honey bee diseases and pests : a practical guide. Repéré à : [http://www.fsnnetwork.org/sites/default/files/honey\\_bee\\_diseases\\_and\\_pests\\_a\\_practical\\_guide.pdf](http://www.fsnnetwork.org/sites/default/files/honey_bee_diseases_and_pests_a_practical_guide.pdf)
- Romo-Chacon, A., Martinez-Contreras, L. J., Molina-Corral, F. J., et al. (2016). Evaluation of Oregano (*Lippia berlandieri*) Essential Oil and Entomopathogenic Fungi for *Varroa destructor* Control in Colonies of Honey Bee, *Apis mellifera*. *Southwest Entomol*, 41(4), 971-982. doi: 10.3958/059.041.0427
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., & Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol*, 103 Suppl 1, S96-119. doi:10.1016/j.jip.2009.07.016
- Sagili, R. (2014). Final research report to the National Honey Board: Evaluating potential of predatory mite (*Stratiolaelaps scimitus*) as a biological control agent for Varroa mites and testing Amitraz (Apivar) efficacy and mite resistance. Repéré à : [http://agresearchfoundation.oregonstate.edu/sites/agresearchfoundation.oregonstate.edu/files/sagili\\_2014-2016\\_final.pdf](http://agresearchfoundation.oregonstate.edu/sites/agresearchfoundation.oregonstate.edu/files/sagili_2014-2016_final.pdf)
- Saito, T., & Brownbridge, M. (2016). Compatibility of soil-dwelling predators and microbial agents and their efficacy in controlling soil-dwelling stages of western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Biol Control*, 92, 92-100. doi:10.1016/j.biocontrol.2015.10.003
- Salvy, M., Martin, C., Bagnères, A. G., et al. (2001). Modifications of the cuticular hydrocarbon profile of *Apis mellifera* worker bees in the presence of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in brood cells. *Parasitology*, 122, 145-159. doi:10.1017/s0031182001007181
- Sammataro, D., Gerson, U., & Needham, G. (2000). Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annu Rev Entomol*, 45, 519-548. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.519
- Schneider, S., Eisenhardt, D., & Rademacher, E. (2012). Sublethal effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): changes in behaviour and longevity. *Apidologie*, 43(2), 218-225. doi:10.1007/s13592-011-0102-0
- Scott, G. (2014). Varroa Mite 2014 Report. The Niagara Beeway. Repréré à <http://www.niagarabeeway.com/varroa-mite.html>
- Smith, K. M., Loh, E. H., Rostal, M. K., et al. (2013). Pathogens, Pests, and Economics: Drivers of Honey Bee Colony Declines and Losses. *EcoHealth*, 10(4), 434-445. doi:10.1007/s10393-013-0870-2
- Spivak, M., & Gilliam, M. (1998). Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa Part I. Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. *Bee World*, 79(3), 124-134. doi: 10.1080/0005772X.1998.11099408
- Statistique Canada. (2015). Parlons de miel. Repéré à <http://www.statcan.gc.ca/pub/11-630-x/11-630-x2016004-fra.htm>

- Steiner, M., Goodwin, S., & Wellham, T. (1999). A simplified rearing method for *Stratiolaelaps (Hypoaspis) miles* (acari: Laelapidae). IOBC/WPRS Bulletin, 22, 241-242.
- The National Bee Unit. (2017). Managing Varroa. York, United Kingdom : The Animal and Plant Health Agency. Repéré à <http://www.nationalbeeunit.com/index.cfm?pageid=167>
- The Honey Bee Health Coalition. (2016). Tools for Varroa Management: A Guide to Effective Varroa Sampling & Control. Repéré à [http://honeybeehealthcoalition.org/wp-content/uploads/2016/03/HBHC-Guide\\_Varroa\\_Interactive\\_18FEB2016.pdf](http://honeybeehealthcoalition.org/wp-content/uploads/2016/03/HBHC-Guide_Varroa_Interactive_18FEB2016.pdf)
- Thompson, H., Ball, R., Brown, M., et al. (2003). *Varroa destructor* resistance to pyrethroid treatments in the United Kingdom. Bull Insectol, 56, 175-184.
- Umpierrez, M. L., Lagreca, M. E., Cabrera, R., et al. (2012). Essential oils from Asteraceae as potential biocontrol tools for tomato pests and diseases. Phytochem Rev, 11(4), 339-350. doi:10.1007/s11101-012-9253-5
- Umpierrez, M. L., Santos, E., Gonzalez, A., et al. (2011). Plant essential oils as potential control agents of varroasis. Phytochem Rev, 10(2), 227-244. doi:10.1007/s11101-010-9182-0
- Underwood, R. M., & Currie, R. W. (2003). The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari : Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). Exp Appl Acarol, 29(3-4), 303-313. doi:10.1023/a:1025892906393
- van der Zee, R., Gray, A., Pisa, L., et al. (2015). An Observational Study of Honey Bee Colony Winter Losses and Their Association with *Varroa destructor*, Neonicotinoids and Other Risk Factors. Plos One, 10(7) : e0131611. doi:10.1371/journal.pone.0131611
- van Dooremalen, C., Gerritsen, L., Cornelissen, B., et al. (2012). Winter Survival of Individual Honey Bees and Honey Bee Colonies Depends on Level of *Varroa destructor* Infestation. Plos One, 7(4) : e36285. doi:10.1371/journal.pone.0036285
- van Toor, R. F., Thompson, S. E., Gibson, D. M., et al. (2015). Ingestion of *Varroa destructor* by pseudoscorpions in honey bee hives confirmed by PCR analysis. J Apic Res, 54(5), 555-562. doi:10.1080/00218839.2016.1184845
- Vandervalk, L. P., Nasr, M. E., & Dosdall, L. M. (2014). New Miticides for Integrated Pest Management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Honey Bee Colonies on the Canadian Prairies. J Econ Entomol, 107(6), 2030-2036. doi:10.1603/ec14048
- vanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., et al. (2009). Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. Plos One, 4(8): e6481. doi:10.1371/journal.pone.0006481
- vanEngelsdorp, D., & Meixner, M. D. (2010). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. J Invertebr Pathol, 103, S80-S95. doi:10.1016/j.jip.2009.06.011
- Vanninen, I., & Koskula, H. (2004). Biocontrol of the shore fly *Scatella tenuicosta* with *Hypoaspis miles* and *H. aculeifer* in peat pots. BioControl, 49(2), 137-152. doi:10.1023/B:BICO.0000017361.48411.fe



- Walter, D. E., & Campbell, N. J. H. (2003). Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari : Mesostigmata : Laelapidae), please stand up? *Biol Control*, 26(3), 253-269. doi:10.1016/s1049-9644(02)00171-8
- Wantuch, H. A., & Tarpy, D. R. (2009). Removal of Drone Brood From *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies to Control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and Retain Adult Drones. *J Econ Entomol*, 102(6), 2033-2040. doi: 10.1603/029.102.0603
- Wegener, J., Ruhnke, H., Scheller, K., et al. (2016). Pathogenesis of varroosis at the level of the honey bee (*Apis mellifera*) colony. *J Insect Physiol*, 91-92, 1-9. doi:10.1016/j.jinsphys.2016.06.004
- Wilfert, L., Long, G., Leggett, H. C., et al. (2016). Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa mites*. *Science*, 351(6273), 594-597. doi:10.1126/science.aac9976
- Winfree, R., Gross, B. J., & Kremen, C. (2011). Valuing pollination services to agriculture. *Ecol Econ*, 71, 80-88. doi:10.1016/j.ecolecon.2011.08.001
- Winston, M. L. (1987). *The biology of the honey bee*. Cambridge, Mass: Harvard University Press.
- Wright, E. M., & Chambers, R. J. (1994). The biology of the predatory mite *Hypoaspis miles* (Acari, Laelapidae), a potential biological control agent of *Bradysia paupera* (Dipt, Sciaridae). *Entomophaga*, 39(2), 225-235. doi:10.1007/bf02372360
- Wu, S. Y., Zhang, Z. K., Gao, Y. L., et al. (2016). Interactions between foliage- and soil-dwelling predatory mites and consequences for biological control of *Frankliniella occidentalis*. *BioControl*, 61(6), 717-727. doi:10.1007/s10526-016-9762-z
- Yang, X., & Cox-Foster, D. (2007). Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134, 405-412. doi:10.1017/s003118200600710
- Ydergaard, S., Enkegaard, A., & Brodsgaard, H. F. (1997). The predatory mite *Hypoaspis miles*: Temperature dependent life table characteristics on a diet of sciarid larvae, *Bradysia paupera* and *B. tritici*. *Entomol Exp Appl*, 85(2), 177-187. doi:10.1046/j.1570-7458.1997.00248.x
- Zhu, W. Y., Schmehl, D. R., Mullin, C. A., et al. (2014). Four Common Pesticides, Their Mixtures and a Formulation Solvent in the Hive Environment Have High Oral Toxicity to Honey Bee Larvae. *Plos One*, 9(1): e77547 . doi:10.1371/journal.pone.00775