



Piégeage et développement pupal du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*) dans les colonies d'abeilles mellifères (*Apis mellifera*) du Québec

Mémoire

Martine Bernier

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

Québec, Canada

© Martine Bernier, 2013

Résumé

Aethina tumida Murray (Coleoptera: Nitidulidae) ou petit coléoptère de la ruche (CR) est un ravageur des colonies d'abeilles domestiques, *Apis mellifera* L., récemment introduit au Canada. Sa phénologie est méconnue dans les climats tempérés et les moyens de lutte développés pour le capturer et le détruire n'ont pas été testés au Canada. Ce projet de recherche comporte deux volets : 1) déterminer l'effet de facteurs édaphiques sur le développement de la puppe du CR; et 2) déterminer l'efficacité relative de pièges intra-colonie et leur impact sur la productivité de la colonie. Les résultats démontrent qu'un sol presque à saturation diminue significativement le taux de survie de la puppe et influence le sexe ratio des adultes émergents tandis qu'un sol sec augmente la durée de pupaison de plusieurs jours. De plus, les pièges testés réduisent significativement les populations de CR dans la colonie sans nuire à sa productivité. L'efficacité relative des pièges est cependant variable en fonction de plusieurs facteurs. Cette étude contribue à une meilleure compréhension de la phénologie du CR en climat tempéré et permet une utilisation rationnelle des moyens de lutte disponibles.

Abstract

The small hive beetle (SHB), *Aethina tumida* Murray, is an invasive pest of honey bees, *Apis mellifera* L., recently introduced in Canada. The economic loss that would result from SHB spreading across the country is significant. SHB phenology has been poorly studied under temperate climates. Moreover, traps for monitoring and capturing this pest have never been tested in Canada. This project had two main objectives: 1) to determine the effects of temperature and water content of soil on the survivorship and development time of SHB pupa; and 2) to determine the effectiveness of three models of in-hive traps as well as their impact on colony productivity. Results shown that wet soils decreased survival rate by half and influenced sex ratio of emerging adults, while dryer soils increased duration of pupation by several days. The in-hive traps tested effectively reduced SHB population without affecting colony productivity. This study contributes to a better understanding of the phenology of the SHB in temperate climates and provides new knowledge to inform appropriate use of available control methods.

Table des matières

| | |
|--|------|
| Résumé..... | iii |
| Abstract..... | v |
| Table des matières..... | vii |
| Liste des tableaux..... | ix |
| Liste des figures..... | xi |
| Remerciements..... | xiii |
| Avant-Propos..... | xvii |
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre I : Revue de littérature..... | 2 |
| 1.1 Distribution..... | 3 |
| 1.2 Biologie..... | 5 |
| 1.2.1 Adultes..... | 5 |
| 1.2.2 Œufs..... | 7 |
| 1.2.3 Larves..... | 9 |
| 1.2.4 Pupes..... | 11 |
| 1.3 Dommages..... | 15 |
| 1.4 Potentiel de propagation et adaptabilité..... | 17 |
| 1.5 Moyens de lutte..... | 19 |
| 1.5.1 Pièges pour capturer les adultes à l'extérieur de la colonie d'abeilles..... | 19 |
| 1.5.2 Pièges pour capturer les adultes à l'intérieur de la colonie d'abeilles..... | 20 |
| 1.5.3 Pièges pour capturer les larves à l'extérieur de la colonie d'abeilles..... | 22 |
| 1.6 Recherche proposée..... | 23 |
| 1.7 Hypothèses du projet..... | 24 |
| Influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du petit coléoptère de la ruche (<i>Aethina tumida</i>)..... | 24 |
| Hypothèse générale..... | 24 |
| Hypothèses spécifiques..... | 24 |
| Utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes du petit coléoptère de la ruche (<i>Aethina tumida</i>)..... | 25 |
| Hypothèse générale..... | 25 |
| Hypothèses spécifiques..... | 25 |
| 1.8 Objectifs du projet..... | 26 |
| Influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du petit coléoptère de la ruche (<i>Aethina tumida</i>)..... | 26 |
| Objectif général..... | 26 |
| Objectifs spécifiques..... | 26 |
| Utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes du petit coléoptère de la ruche (<i>Aethina tumida</i>)..... | 27 |
| Objectif général..... | 27 |
| Objectifs spécifiques..... | 27 |
| Chapitre II..... | 28 |
| Résumé..... | 30 |
| Abstract..... | 31 |
| 2.1 Introduction..... | 32 |

| | |
|---|----|
| 2.2 Materials and Methods | 35 |
| 2.2.1 Small hive beetle rearing | 35 |
| 2.2.2 Pupal development | 35 |
| 2.2.3 Sex ratio and lifespan of emerging adults | 36 |
| 2.2.4 Statistics | 37 |
| 2.3 Results | 38 |
| 2.3.1 Pupal development | 38 |
| 2.3.2 Sex ratio and lifespan of emerging adults | 39 |
| 2.4 Discussion | 40 |
| 2.4.1 Survival rate of pupae | 40 |
| 2.4.2 Pupal development time | 41 |
| 2.4.3 Sex ratio of emerging adults | 42 |
| 2.4.4 Lifespan of emerging adults | 42 |
| Acknowledgements | 44 |
| Chapitre III | 51 |
| Résumé | 53 |
| Abstract | 54 |
| 3.1 Introduction | 55 |
| 3.2 Materials and Methods | 57 |
| 3.2.1 Study sites | 57 |
| 3.2.2 Small hive beetle traps | 58 |
| 3.2.3 Effect of traps on brood population, honey yield and SHB population in West-Montérégie bee colonies | 59 |
| 3.2.4 In-hive trap positioning | 59 |
| 3.2.5 Statistical analysis | 60 |
| 3.3 Results | 61 |
| 3.3.1 West-Montérégie trial | 61 |
| 3.3.2 Essex county trial | 62 |
| 3.4 Discussion | 63 |
| Acknowledgements | 67 |
| Chapitre IV : Conclusion générale | 81 |
| Bibliographie | 87 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 Temps d'éclosion des œufs d' <i>Aethina tumida</i> en fonction de la température..... | 8 |
| Tableau 2 Temps de développement des larves d' <i>Aethina tumida</i> en fonction de la température..... | 10 |
| Tableau 3 Taux de survie et temps de développement des pupes d' <i>Aethina tumida</i> en fonction de la température et de la teneur en eau du sol | 13 |
| Table 4 Mean percent survival rate \pm SE for pupae of <i>Aethina tumida</i> at 16, 18 and 20°C and soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil | 45 |
| Table 5 Mean development time of <i>Aethina tumida</i> pupae \pm SE at 16, 18 and 20°C and soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil | 46 |
| Table 6 Proportion of <i>Aethina tumida</i> females in soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil | 47 |
| Table 7. Lifespan of emerging <i>Aethina tumida</i> adults in water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil | 48 |
| Table 8 Site information for the West-Montérégie trial (Quebec) | 68 |
| Table 9 Site information for the Essex County trial (Ontario) | 69 |
| Table 10 Trap position possibilities for the AJ's Beetle Eater™, Beetle Barn™ and Hood™ trap in the West-Montérégie field trial. (L=left, R=Right, F=front, Re=Rear). | 70 |
| Table 11 Measured variables in West-Montérégie (Quebec) and Essex County (Ontario)..... | 71 |
| Table 12 Final number of SHB in bee colonies for West-Montérégie trial on June 27 th , 2011..... | 72 |
| Table 13 Number of SHB captured in Hood™ trap: mineral oil vs mineral oil + apple cider vinegar. Essex County trial, from August 8 th to October 5 th , 2011. | 73 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 Petit coléoptère de la ruche adulte. A. Nouvellement émergé. B. Mature. Crédits photo: A. Martine Bernier. B. Joseph Moisan-De-Serres | 6 |
| Figure 2 Œufs d' <i>Aethina tumida</i> . Crédits photos: Martine Bernier..... | 9 |
| Figure 3 Larves d' <i>Aethina tumida</i> . A. Immature. B. Mature. Crédits photos: Martine Bernier | 11 |
| Figure 4 Pups d' <i>Aethina tumida</i> . A. Dans sa cavité de développement pupal creusée dans le sol. B. Yeux visibles. C. Yeux, ailes et mandibules visibles. Crédits photos: Martine Bernier. | 14 |
| Figure 5 Survival rate of <i>Aethina tumida</i> pupae at temperatures of 16, 18 and 20°C and water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil (Linear equations in logit model for regression). | 49 |
| Figure 6 Development time of <i>Aethina tumida</i> pupae at temperatures of 16, 18 and 20°C and water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m ³ of water per m ³ of dry soil (Quadratic equations for regression)..... | 50 |
| Figure 7 AJ's Beetle Eater™ trap (AJ's Beetle Eater) A. Container and lid apart. B. Trap placed in a brood chamber, on top of the first and second frames. Photo credits: Martine Bernier. | 74 |
| Figure 8 Beetle Barn™ (Rossmann Apiaries). A. Open. B. Closed. Photo credits: Martine Bernier. | 75 |
| Figure 9 Hood™ trap (Rocky Mountain Bee Farm). A. Trap placed in an empty frame, showing container and lid. B. Inside the trap are three compartments. Photo credits: Martine Bernier..... | 76 |
| Figure 10 Teal™ trap placed at the entrance of the hive. Photo credits: Martine Bernier. | 77 |
| Figure 11 Average number (± SE) of adult SHB caught in traps according to the type of trap, from May 30 th to June 27 th , 2011, in Montérégie-Ouest. | 78 |
| Figure 12. Average number (± SE) of adult SHB captured per trap, from August 17 th to October 5 th , 2011, in Essex County..... | 79 |
| Figure 13. Average number (± SE) of adult SHB captured by the Beetle Barn™ during week 1 and 2 in Essex County, Ontario. | 80 |

*À tous ceux, qui, comme moi,
ont eu la piqûre...*

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier mon co-directeur, Pierre Giovenazzo, pour son support inconditionnel autant au niveau moral que professionnel et financier. Merci de croire en moi et d'avoir confiance en mes capacités et en mon potentiel. Merci de m'offrir, chaque fois, des opportunités stimulantes dans ce si beau monde qu'est l'apiculture.

Merci à ma directrice, Valérie Fournier, pour m'avoir permis de réaliser mon projet de maîtrise et de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche. Merci aussi pour les nombreuses opportunités de présenter mon projet et d'assister à des conférences durant ces trois dernières années. Merci d'avoir su me fournir un environnement de travail stimulant et rempli de défis.

Merci au Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) et NSERC-CANPOLIN, organismes subventionnaires, sans qui ce projet de recherche n'aurait pas pu avoir lieu.

Je voudrais aussi remercier le personnel de la section apicole du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD), en particulier Émile Houle pour ses précieux conseils et ses talents de menuisier et d'informaticien. Merci aussi à mon collègue et ami, Michael Benoît pour son support, ses encouragements et ses commentaires constructifs autant pour ce qui a trait à l'apiculture que de la vie en général. Merci aussi à Georges Martin et Sylvain Gingras pour le travail effectué dans le cadre de mon projet.

Merci aussi à Andrée Rousseau, pour son aide précieuse et son courage à affronter mes abeilles de la Montérégie. Merci pour ton entrain, ton sourire et ta vision positive de la vie. Merci aussi pour ton aide au laboratoire et pour avoir pris soin de mon élevage avec presque autant d'amour et de dégoût que je l'aurais fait moi-même.

Merci à Joel Laberge ainsi qu'à son fils Sébastien pour l'entretien des colonies en Montérégie-Ouest ainsi que pour les discussions toujours enrichissantes.

Merci à Les Eccles, à Janet Tam et à tout le personnel de l'équipe de transfert technologique de l'Association des apiculteurs de l'Ontario pour leur collaboration, autant intellectuelle que sur le terrain : Melanie Kempers, Raquel Mijares González, Natalie Talbot, Corey Ferguson et Alex Maranduik.

Merci à mes collègues et amies de l'Envirotron Maude, Myriam et en particulier Maggie et Angélique, qui ont su m'épauler, me reconforter et m'encourager et qui étaient toujours partantes pour une tasse de café ou de thé, une virée magasinage ou encore une bonne bouteille de vino.

Merci à mon conjoint Olivier Bouchard, pour son support durant toute la durée de ma maîtrise, pour ses talents de menuisier et surtout, pour ses inégalables talents artistiques. Merci aussi à mes parents, Lyne Roy et Sylvain Bernier et à mon parrain, Mario Roy, pour toujours s'intéresser à mes projets et à m'encourager à mener une vie heureuse. Merci de m'avoir donné la passion de la nature et la curiosité de vouloir en découvrir les subtilités.

Merci à tous ceux qui sont venus m'aider au laboratoire et qui ont affronté l'odeur infernale qui y régnait. Merci à Sébastien Beauchamp pour sa patience infinie, à Mélissa Girard pour son bon miel et sa compagnie, à Jean-Frédéric Guay pour son aide précieuse, entre autres pour les sondes de températures, à Ségolène pour sa capacité à effectuer n'importe quel travail. Merci aussi à Joseph Moisan-De-Serres, pour son support, ses conseils et sa compagnie au laboratoire.

Merci aussi à Gaétan Daigle, statisticien à l'Université Laval, pour l'analyse statistique des données de mon projet. Sans vous, je serais encore devant SAS à écrire des lignes de programmation incompréhensibles.

Merci à Conrad Cloutier, professeur au département de biologie de l'Université Laval, pour ses suggestions avisées, ses commentaires pertinents et ses mots d'encouragement. Merci aussi à Steeve Pépin d'avoir accepté de réviser ce mémoire et ainsi, me permettre enfin d'obtenir, au bout de mon nom, ces autres trois lettres bien méritées.

Merci aussi à Guillaume Théroix-Rancourt, Jonathan Lafond et Yann Périard pour leurs précieux conseils sur l'humidité des sols.

Merci à Peter Neumann pour ses réponses à mes questions concernant le petit coléoptère de la ruche ainsi que pour m'avoir fourni certains articles scientifiques, dont un quasi introuvable. Merci à Jeff Pettis, chercheur au USDA pour ses informations pertinentes.

Merci à tous mes coéquipiers et adversaires d'Ultimate Frisbee et de Volleyball, qui m'ont permis, peut-être même sans le savoir, de me changer les idées, d'oxygéner mon cerveau et de me donner de l'énergie.

Et enfin, merci à tous ceux avec qui j'ai discuté « abeilles » pour quelques minutes ou plusieurs heures, et tout particulièrement à mon beau-père, Alain Bouchard, qui est une source intarissable de curiosité et d'ouverture d'esprit.

Avant-Propos

Ce mémoire contient deux manuscrits d'articles scientifiques qui seront soumis pour publication. L'article présenté au chapitre II sera soumis au **Journal of Economic Entomology**. Il s'intitule *Pupal development of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in different thermo-hygrometric soil conditions* et a été rédigé par Martine Bernier, agr., auteure principale. Les co-auteurs sont Valérie Fournier, Ph.D., professeure adjointe au département de phytologie à l'Université Laval et Pierre Giovenazzo, Ph.D., chercheur en apiculture au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault et chargé de cours au département de Biologie, Université Laval. L'article présent au chapitre III sera soumis à **The Canadian Entomologist**. Il s'intitule *Control of the small hive beetle, *Aethina tumida*, using deadly in-hive traps* et a également été rédigé par Martine Bernier, auteure principale. Les co-auteurs sont Valérie Fournier et Pierre Giovenazzo

Introduction

L'apiculture contemporaine, tant au Canada que partout dans le monde, a subi de profonds bouleversements depuis les trente dernières années (Potts *et coll.*, 2010). L'apparition de nouvelles maladies jusqu'alors inconnues, a forcé les apiculteurs à s'adapter ou, encore, à disparaître. Ceux-ci, accompagnés des conseillers apicoles, doivent rivaliser d'ingéniosité pour trouver des solutions à ces nouveaux problèmes. La liste est déjà longue et compte plusieurs problématiques : l'application de pesticides, la présence de monocultures et la perte de diversité florale, les stress liés à la transhumance pour la pollinisation commerciale et les nombreux parasites et pathogènes qui s'attaquent à l'abeille domestique.

Aussi, de nouveaux ennemis exotiques font continuellement leur apparition. Cette fois-ci, il s'agit du petit coléoptère de la ruche (CR), *Aethina tumida* Murray (Coleoptera : Nitidulidae), dont la levure, *Kodamaea ohmeri*, associée avec la cuticule des adultes et des larves, fait fermenter le miel, le rendant impropre à la consommation, autant pour les humains que pour les abeilles. Cependant, la phénologie de cet insecte originaire d'Afrique du Sud reste méconnue en contexte climatique canadien. De plus, les dommages importants qu'il cause sont surtout répertoriés dans des endroits ayant un climat semblable à celui de l'Afrique, comme le sud des États-Unis ou encore l'Australie, où il a été introduit accidentellement il y a une vingtaine d'années.

Cette étude a donc deux buts principaux, soit de contribuer à connaître la phénologie d'*A. tumida* en contexte climatique canadien, plus particulièrement en ce qui a trait aux conditions requises par la puppe pour effectuer son développement dans le sol et, en second lieu, de tester des méthodes de piégeage économiques qui seront en mesure de réduire de façon significative les populations de CR dans les colonies des apiculteurs.

Chapitre I : Revue de littérature

1.1 Distribution

Aethina tumida Murray, également appelé « petit coléoptère de la ruche » (CR) est un coléoptère de la famille des Nitidulidae (Lundie, 1940). Il est originaire d'Afrique, où il a été identifié pour la première fois en 1867 par Andrew Murray (Lundie, 1940) au Old Calabar, Nigeria. Sur ce continent, on le retrouve dans tous les climats tropicaux et sub-tropicaux (Lundie, 1940). Le désert du Sahara forme une barrière quasi infranchissable pour cet insecte (Ellis *et coll.*, 2004).

En 1998, il est capturé par un apiculteur dans le comté de Sainte-Lucie, en Floride (Thomas, 1998). La même année, il sera également observé dans les colonies de Caroline du Nord (Hopkins *et coll.*, 1999), de Caroline du Sud et de Géorgie (Elzen *et coll.*, 1999). Cependant, on suspecte qu'il serait probablement introduit depuis 1996 puisque quelques spécimens avaient été récoltés cette même année (Hood, 2004). Les dommages qu'il cause aux colonies de son nouvel environnement sont considérables. Il détruit des colonies fortes et en santé et même des ruchers complets (Elzen *et coll.*, 1999), phénomène qui n'était pas observé en Afrique. En effet, dans son lieu d'origine, le CR n'endommageait que les colonies faibles ou les mielleries (Lundie, 1940). Dans les années qui ont suivi, le CR s'est rapidement propagé dans tout l'est des États-Unis (Hood, 2004). Il avait alors été transporté avec les colonies, par la transhumance de celles-ci et la vente de produits apicoles, comme les paquets d'abeilles ou le matériel apicole (Hood, 2004).

Le CR a fait sa première apparition en Australie en 2002 (Somerville, 2003). Le site des premières infestations, tout comme celles observées aux États-Unis, étaient situées près de villes portuaires. Hood (2004) suggère que les CR avaient été transportés dans des cargaisons de navire en partance de l'Afrique.

Au Canada, le CR a fait sa première apparition en 2002, au Manitoba (Dixon et Lafrenière, 2002). Il avait été transporté dans un envoi de cire provenant du Texas (Dixon et Lafrenière, 2002). En 2006, il a été observé une seconde fois au Manitoba (Lafrenière, 2006) et une première fois en Alberta, près de la station de recherche de Beaverlodge (Nasr, 2006). Il avait probablement été transporté dans des paquets d'abeilles en provenance de l'Australie. L'haplotype qui y avait été découvert était très semblable à ceux retrouvés en Australie (Lounsberry *et coll.*, 2010). Les spécimens de 2002 et de 2006 furent rapidement éradiqués, ne causant aucun dommage dans ces régions. En septembre 2008, sa présence fut rapportée par un apiculteur du sud-ouest de la Montérégie (MAPAQ, 2008). Giovenazzo et Boucher (2010) ont suggéré que les adultes CR migraient au Canada en volant au-dessus de la frontière Canada-États-Unis. En effet, un rucher américain se trouvait à quelques kilomètres seulement du rucher infesté en Montérégie. L'haplotype québécois était d'ailleurs similaire à celui retrouvé aux États-Unis (Lounsberry *et coll.*, 2010). Des inspections ultérieures ont révélé la présence de CR adultes dans les colonies de certains apiculteurs de la région à l'automne 2010 et 2011. Jusqu'à maintenant, aucun dommage n'a été observé dans cette région. Depuis 2010, le CR est également établi dans le comté d'Essex, au sud de l'Ontario (Kozak, 2010). La population de CR retrouvée en Ontario est plus importante que celle retrouvée au Québec et ils peuvent y compléter leur cycle de vie. Une zone de quarantaine a été établie pour limiter sa propagation au reste de la province (Murray, 2011). En 2011, quelques individus ont été découverts en Alberta et au Manitoba dans des envois de reines d'abeilles en provenance d'Hawaii (Canadian Food Inspection Agency, 2011).

1.2 Biologie

1.2.1 Adultes

Fraîchement émergé du sol (fig.1A), le CR adulte a une coloration brun-jaune (Lundie, 1940). Il devient ensuite brun, brun foncé et enfin, noir (fig. 1B), quelques jours plus tard (Lundie, 1940). Nouvellement émergés, ils sont très actifs et cherchent à s'envoler vers la lumière (Lundie, 1940). Subséquemment, ils deviennent moins mobiles et fuient la lumière pour se cacher dans les endroits sombres de la colonie (Lundie, 1940; Schmolke, 1974). Les femelles sont plus longues et plus volumineuses que les mâles (de Guzman et Frake, 2007; Ellis *et coll.*, 2002a). Celles-ci mesurent entre 4,7 et 6,3 mm de long et entre 3,2 et 3,48 mm de large (Lundie, 1940; de Guzman et Frake, 2007; Ellis *et coll.*, 2002a). Les mâles, quant à eux, mesurent entre 5,29 et 6,0 mm de long et entre 3,1 et 3,43 mm de large (de Guzman et Frake, 2007; Ellis *et coll.*, 2002a). La masse des femelles se situe entre 11,40 et 15,00 mg tandis que celle des mâles varie entre 10,02 et 13,10 mg (de Guzman et Frake, 2007; Ellis *et coll.*, 2002a). Les adultes issus de larves qui ont été élevées à des températures plus élevées voient leur taille et leur masse augmenter par rapport aux larves élevées à des températures inférieures (de Guzman et Frake, 2007). Ils deviennent sexuellement matures de un à sept jours après l'émergence (de Guzman et Frake, 2007; Lundie, 1940). Leur durée de vie est très variable et peut aller jusqu'à 188 jours (Lundie, 1940; Ellis *et coll.*, 2002b). Ils peuvent survivre de 2 à 10 jours sans eau ni nourriture (Pettis et Shimanuki, 2000; Schmolke, 1974). Leur potentiel de reproduction est très élevé. Chaque femelle peut pondre jusqu'à 1000 œufs sur une période de 3 à 4 mois (Schmolke, 1974). De plus, en 1938 en Afrique, Lundie (1940) a observé 5 générations complètes de cet insecte. L'adulte est également le stade qui a la capacité de survivre à l'hiver, en restant dans les colonies d'abeilles domestiques où il trouve de la chaleur et de la nourriture (Pettis et Shimanuki, 2000; Hood, 2000).

Le sexe ratio de cet insecte diffère selon les études consultées. Il ne semble pas dépendre de la température (de Guzman et Frake, 2007), comme c'est le cas chez plusieurs insectes (Blossey *et coll.*, 2000; Samara *et coll.*, 2011). Les études menées par de Guzman et Frake (2007) indiquent un sexe ratio de 1♀ :1♂, mais celles de Neumann *et coll.* (2001), d'Ellis *et coll.* (2002a), d'Ellis *et coll.* (2002b) et de Murrle et Neumann (2004) indiquent plutôt un sexe ratio de 2♀ :1♂.

Les adultes CR sont attirés dans les colonies d'abeilles domestiques par les substances volatiles émises par celles-ci, plus particulièrement les odeurs liées aux abeilles adultes, au miel et au pollen (Elzen *et coll.*, 1999; Suazo *et coll.*, 2003). Les femelles CR sont particulièrement sensibles à ces volatiles (Suazo *et coll.*, 2003). Enfin, les adultes CR peuvent voler sur de grandes distances. Somerville (2003) a rapporté qu'ils pouvaient voler jusqu'à une distance d'environ 15 kilomètres.

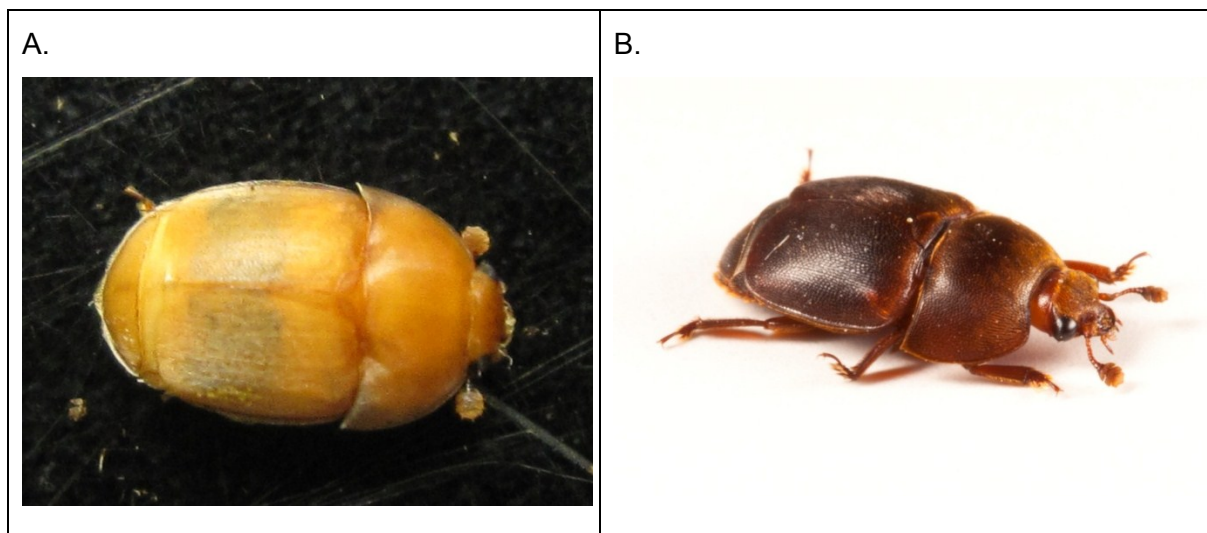


Figure 1 Petit coléoptère de la ruche adulte. A. Nouvellement émergé. B. Mature.
Crédits photo: A. Martine Bernier. B. Joseph Moisan-De-Serres

1.2.2 Œufs

L'œuf du CR (fig. 2) mesure environ 1,4 mm de long par 0,26 mm de large, d'une couleur blanc nacré (Lundie, 1940). Il est également pourvu d'une fente longitudinale située à son extrémité antérieure, d'où sortira la larve (Lundie, 1940). Ils sont pondus en un regroupement irrégulier, principalement dans les interstices de la colonie (Lundie, 1940), là où les abeilles n'y ont pas accès. Ils sont également déposés près des rayons de miel ou de pollen, afin de leur fournir une réserve de nourriture (Lundie, 1940). Les œufs se développent en quelques heures ou en plusieurs jours (Lundie, 1940; Neumann *et coll.*, 2001; Haque et Levot, 2005; de Guzman et Frake, 2007; Meikle et Patt, 2011). Le temps de développement est influencé par la température (de Guzman et Frake, 2007; Meikle et Patt, 2011). Le tableau 1 indique plusieurs valeurs de temps d'éclosion en fonction de la température. Le taux de survie des œufs est également affecté par la température, les températures de viabilité inférieures et supérieures étant estimées respectivement à 13,5°C et 35°C (Meikle et Patt, 2011).

Tableau 1 Temps d'éclosion des œufs d'*Aethina tumida* en fonction de la température

| Température | Temps d'éclosion | Référence |
|--------------------|-------------------------|----------------------------------|
| inconnue | 1 à 6 jrs | (Lundie, 1940) |
| 17-24°C | Jusqu'à 2 jrs | (Neumann <i>et coll.</i> , 2001) |
| 21°C | 62,6 ± 0,4 h | (Meikle et Patt, 2011) |
| 24-28°C | 71 h | (de Guzman et Frake, 2007) |
| 25°C | 39,0 ± 0,5 h | (Meikle et Patt, 2011) |
| 29°C | 1 à 2 jrs | (Haque et Levot, 2005) |
| 34°C | 51 h | (de Guzman et Frake, 2007) |



Figure 2 Œufs d'*Aethina tumida*. Crédits photos: Martine Bernier

1.2.3 Larves

La larve traverse trois (de Guzman et Frake, 2007) ou quatre (Haque et Levot, 2005) stades larvaires. La jeune larve (fig. 3A) mesure de 47,6 à 63,5 mm et atteint, à maturité (fig. 3B), une longueur variant de 111,1 mm à 254,0 mm et un diamètre de 15,8 mm (Lundie, 1940). Elle est alors d'une couleur blanc crème (Lundie, 1940). À maturité, sa face dorsale est plantée d'une double série d'épines et sa tête, d'une capsule (Lundie, 1940).

Le temps de développement des larves varie entre 8 et 29 jours (Lundie, 1940; Neumann *et coll.*, 2001; Murrle et Neumann, 2004;

Haque et Levot, 2005). Celui-ci est également influencé par la température (de Guzman et Frake, 2007; Meikle et Patt, 2011). La température minimale requise pour la survie de la larve est estimée à 10°C (Meikle et Patt, 2011). Le tableau 2 indique quelques temps de développement de la larve en fonction de la température. Le régime alimentaire influence également la rapidité à laquelle la larve devient mature (Meikle et Patt, 2011). La période à laquelle la larve est complètement mature se caractérise par une phase de migration (Lundie, 1940). En effet, lorsqu'elle est mature, la larve démontre un phototactisme positif (Schmolke, 1974; Neumann *et coll.*, 2001). À ce stade, on l'identifie comme étant une « larve migrante ». Elle se déplace alors vers l'entrée de la colonie, attirée par la lumière extérieure et se laisse tomber au sol. Elle s'enfonce dans le sol et y forme une « cellule », dont elle enduit les parois d'une sécrétion salivaire (Lundie, 1940; de Guzman et Frake, 2007). Elle peut parcourir de grandes distances avant de s'y enfouir, si les conditions édaphiques ne semblent pas propices (Ellis *et coll.*, 2004).

Tableau 2 Temps de développement des larves d'*Aethina tumida* en fonction de la température

| Température | Temps de développement | Référence |
|-------------|------------------------|----------------------------------|
| inconnue | 8-29 jrs | (Lundie, 1940) |
| 17-24°C | 14-16 jrs | (Neumann <i>et coll.</i> , 2001) |
| 18-25°C | 12-19 jrs | (Murrle et Neumann, 2004) |
| 29°C | 15 jrs | (Haque et Levot, 2005) |

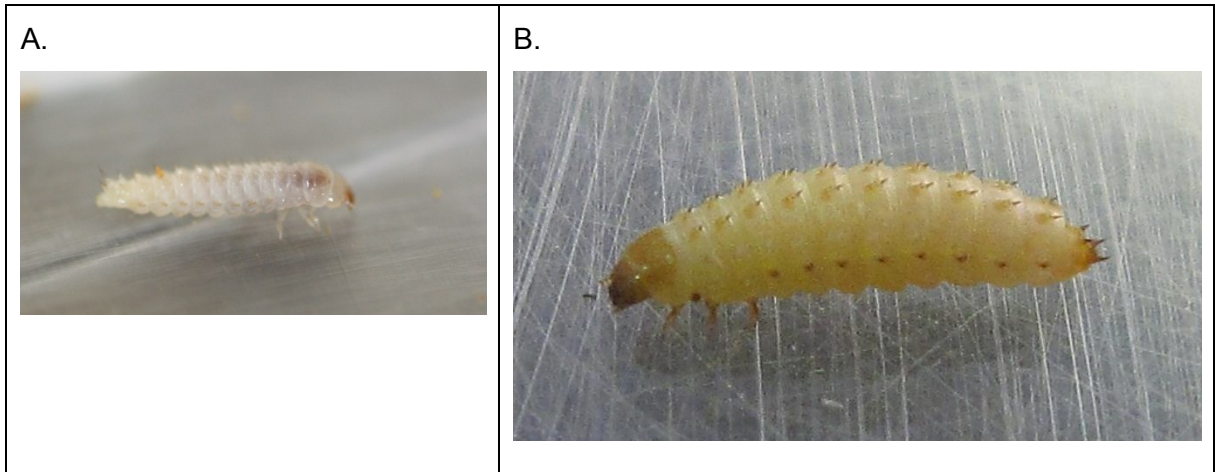


Figure 3 Larves d'*Aethina tumida*. A. Immature. B. Mature. Crédits photos: Martine Bernier

1.2.4 Pupes

La transformation de la puppe (fig. 4A) se déroule majoritairement dans les 10 premiers centimètres du sol (de Guzman *et coll.*, 2009; Pettis et Shimanuki, 2000). Une faible proportion des pupes s'enfouit jusqu'à 11-20 cm, mais dépassent rarement une profondeur de 20 cm (de Guzman *et coll.*, 2009; Pettis et Shimanuki, 2000). La puppe de CR subit plusieurs mues avant sa transformation en adulte (Lundie, 1940). Au départ, elle est d'une couleur blanche nacré (fig. 4B) et elle est pourvue de plusieurs épines sur son thorax et son abdomen (Lundie, 1940). À mesure qu'elle se développe, sa pigmentation apparaît (Lundie, 1940). Les yeux, les ailes et les mandibules deviennent progressivement visibles (fig. 4C) (Lundie, 1940).

Le stade pupal est sans contredit le stade le plus vulnérable, puisqu'il se déroule à l'extérieur de la colonie d'abeilles. La puppe est soumise aux aléas du climat et aux prédateurs. Lorsqu'ils ont élevé le CR en laboratoire, de Guzman et Frake (2007) n'ont observé des mortalités que durant le stade pupal (température de 24 à 28°C et de 34°C). Lundie (1940) et Ellis *et coll.* (2004) ont tous deux

suggéré que les facteurs environnementaux pouvaient soit limiter ou améliorer le potentiel de reproduction du CR. Ce sont principalement les facteurs édaphiques qui sont en cause, notamment le type de sol, son contenu en eau et sa masse volumique, la pente du champ, le drainage, les précipitations et la température (de Guzman *et coll.*, 2009). Cependant, ce seraient la température du sol (de Guzman et Frake, 2007; de Guzman *et coll.*, 2009; Meikle et Patt, 2011) et de son contenu en eau (Lundie, 1940; Schmolke, 1974; Ellis *et coll.*, 2004; Meikle et Patt, 2011) qui auraient l'impact le plus marqué sur la capacité de reproduction du CR. La présence d'humidité dans le sol est un facteur essentiel au bon développement et à la survie de la puppe (Lundie, 1940; Haque et Levot, 2005). Ces observations sont aussi semblables chez d'autres coléoptères. Par exemple, la puppe de *Cerotoma trifurcate* Foster, se dessèche et meurt lorsqu'exposée à un climat sec, tandis que les sols humides lui sont favorables (Eddy et Nettles, 1930). Enfin, le type de sol ne semble pas affecter le développement de la puppe de CR (Schmolke, 1974; Ellis *et coll.*, 2004; de Guzman *et coll.*, 2009) alors que sa masse volumique a des effets mitigés (Ellis *et coll.*, 2004).

Jusqu'à maintenant, l'effet de la température sur le développement de la puppe de CR a été étudié pour des températures variant de 21 à 35°C (Neumann *et coll.*, 2001; Murrle et Neumann, 2004; Ellis *et coll.*, 2004; Haque et Levot, 2005; de Guzman et Frake, 2007; de Guzman *et coll.*, 2009; Meikle et Patt, 2011). Ces températures sont représentatives des conditions climatiques retrouvées en Afrique, au sud des États-Unis et en Australie. De plus, Pettis (2003) a observé que la puppe du CR ne survivait pas lorsque la température est inférieure à 10°C. La puppe de CR ne survit pas non plus sous 0°C (Jacobson, 2005). Le tableau 3 récapitule les résultats obtenus par différentes équipes de recherche.

Tableau 3 Taux de survie et temps de développement des pupes d'*Aethina tumida* en fonction de la température et de la teneur en eau du sol

| Taux de survie | Temps de développement | Température (°C) | Contenu en eau du sol | Type de sol | Photopériode | Référence |
|----------------|---|------------------|-----------------------|--|--------------|----------------------------------|
| inconnu | 36-53 jours | 17-24 | Humide (inconnu) | Sol stérilisé, type inconnu | normale | (Neumann <i>et coll.</i> , 2001) |
| 98,6% | 24 ± 1,75 jours (22-63 jours) | 18-25 | Humide (inconnu) | Sable fin, riche en quartz et en humus, pauvre en argile | 0L : 24D | (Murrle et Neumann, 2004) |
| 0% | ♀ : 22,9 ± 0,1 jours; ♂ : 23,3 ± 0,1 jours | 24,6 ± 1,3 | 0% | Sable loameux, argile limoneuse, loam sableux, loam argileux | inconnue | (Ellis <i>et coll.</i> , 2004) |
| 91,5 à 97,9% | | | 10-11% (pondérale) | | | |
| inconnu | 13-25 jours | 29 | ~ 100 g/kg | Mélange de sable grossier et de tourbe (1 :1 vol/vol) | 14L : 10D | (Haque et Levot, 2005) |
| 93% | ♀ : 10,80 ± 0,10 jours; ♂ : 10,90 ± 0,10 jours | 24-28 | Humide (inconnu) | Terre de rempotage | normale | (de Guzman et Frake, 2007) |
| 90% | ♀ : 5,33 ± 0,09 jours; ♂ : 5,48 ± 0,09 jours | 34 | | | | |
| > 80% | 32,7 jours | 21 | 5-8% (pondérale) | Sol sableux | inconnue | (Meikle et Patt, 2011) |
| | 25,8 jours | 25 | | | | |
| | 16,8 jours | 28 | | | | |
| | 15,3 jours | 32 | | | | |
| ~ 35% | 14,8 jours | 35 | | | | |



Figure 4 Pupe d'*Aethina tumida*. A. Dans sa cavité de développement pupal creusée dans le sol. B. Yeux visibles. C. Yeux, ailes et mandibules visibles. Crédits photos: Martine Bernier.

1.3 Dommages

Dans les colonies d'abeilles européennes, ce sont les stades larvaires de CR qui causent les principaux dommages en se nourrissant du miel et en déféquant sur les cadres (Elzen *et coll.*, 1999; Lundie, 1940). Le mélange de miel et de fèces devient une pâte brunâtre qui contamine le miel et le pollen. De plus, la présence d'une levure, *Kodamaea ohmeri*, sur la cuticule des larves et des adultes CR (Torto *et coll.*, 2007b) provoque une fermentation du miel et du pollen. Le miel devient ainsi impropre à la consommation, autant pour les humains que pour les abeilles. Les larves et les adultes de CR se nourrissent également d'œufs, de larves et de pupes d'abeilles (Elzen *et coll.*, 2000; Elzen *et coll.*, 1999). Lorsque le niveau d'infestation de la colonie est trop élevé, les abeilles vont même jusqu'à quitter la ruche (Ellis *et coll.*, 2003b). Une grande partie des dommages sont également causés dans les mielleries, qui sont les bâtiments où le miel est extrait des ruches. Les rayons de miel entreposés dans la chambre chaude peuvent contenir une grande quantité d'œufs, difficilement visibles à l'œil nu. Ceux-ci vont éclore et, en quelques jours, causer une fermentation du miel, en plus d'y déposer une quantité non négligeable d'excréments (Lundie, 1940). Le miel contaminé coule alors hors des cadres. Il est accompagné d'une odeur caractéristique d'oranges pourries (Lundie, 1940).

Le CR adulte est également un potentiel vecteur du virus des ailes déformées (Eyer *et coll.*, 2009a) et celui du couvain sacciforme (Eyer *et coll.*, 2009b), deux virus qui peuvent infecter les abeilles domestiques. Associé avec l'ectoparasite *Varroa destructor*, le CR trouble aussi la thermorégulation des abeilles durant l'hiver (Schäfer *et coll.*, 2011).

D'un point de vue économique, le CR a causé, en 1998, des pertes économiques estimées à 3 millions \$US chez les apiculteurs de la Floride

(Ellis *et coll.*, 2002b). Au Québec, une infestation non contrôlée de 15% des colonies entraînerait des pertes économiques estimées à plus d'un million de dollars (MAPAQ, 2000).

1.4 Potentiel de propagation et adaptabilité

Comme mentionné précédemment, le CR a un potentiel de reproduction très élevé de par sa capacité à infester relativement facilement les colonies d'abeilles domestiques européennes (Elzen *et coll.*, 1999), à se reproduire en grand nombre (Schmolke, 1974) et à franchir de grandes distances au vol (Somerville, 2003). De plus, le CR a un potentiel de propagation élevé, que ce soit d'un pays à l'autre, ou d'une région à l'autre à l'intérieur d'un même pays. Tout d'abord, il peut être transporté avec les divers produits apicoles, que ce soit les envois de cire, de paquets d'abeilles, de nucléis ou de reines (Hood, 2004). C'est d'ailleurs par cette voie qu'il a été introduit dans l'Ouest du Canada (Dixon et Lafrenière, 2002; Nasr, 2006; Canadian Food Inspection Agency, 2011). Il peut également être transporté dans les colonies d'abeilles domestiques, lorsque celles-ci sont transhumées d'un endroit à l'autre (Hood, 2004), plus particulièrement lors de la pollinisation des cultures. Le CR est également en mesure de compléter son cycle vital en s'alimentant de fruits frais ou fermentés (Ellis *et coll.*, 2002b; Arbogast *et coll.*, 2009b). Il peut également compléter son cycle de vie en s'alimentant des produits retrouvés dans les colonies de bourdons fébriles (*Bombus impatiens*) (Spiewok et Neumann, 2006; Stanghellini *et coll.*, 2000). Cela est d'autant plus inquiétant si on considère le contexte particulier lié au Québec. En effet, chaque printemps, des milliers de colonies d'abeilles domestiques sont louées par les producteurs de bleuets du Saguenay-Lac-St-Jean et de la Côte-Nord. Ces colonies proviennent des quatre coins du Québec et de l'Ontario et appartiennent à des dizaines d'apiculteurs différents. De plus, des colonies de bourdons fébriles sont utilisées pour la pollinisation des cultures, en complément avec les colonies d'abeilles domestiques. Le CR a donc la possibilité d'infester de nombreuses colonies de plusieurs apiculteurs, qui, en retournant dans leurs régions respectives, peuvent causer une infestation chez leurs voisins. Il est également possible que ce ravageur s'adapte aux conditions climatiques tempérées qui prévalent au Canada. Enfin, le réchauffement climatique peut également être un facteur qui pourrait accélérer la propagation du CR, puisque

certaines régions plus froides du Canada pourraient devenir plus chaudes, permettant ainsi à ce ravageur de s'y établir et d'y compléter son cycle de vie.

1.5 Moyens de lutte

L'utilisation de pièges pour capturer les adultes ou les larves de CR, à l'extérieur ou à l'intérieur de la colonie d'abeilles, peut contribuer à en diminuer les populations. Certains sont disponibles commercialement, pour la plupart, aux États-Unis ou en Australie, tandis que d'autres peuvent être fabriqués par l'apiculteur. Voici quelques-uns de ces pièges.

1.5.1 Pièges pour capturer les adultes à l'extérieur de la colonie d'abeilles

Les pièges utilisés pour capturer les adultes à l'extérieur des colonies contribuent à réduire la population de CR. Il s'agit d'une chaudière avec un couvercle dont une face est percée d'une ouverture d'environ 7 cm de diamètre sur lequel est posé un grillage métallique avec des mailles espacées de 0,31 cm (Elzen *et coll.*, 1999). Cependant, il y a plusieurs facteurs à considérer lors de l'installation de ceux-ci afin qu'ils soient efficaces. Tout d'abord, l'appât placé à l'intérieur doit être hautement attractif pour les CR, sinon, ceux-ci seront plus attirés par les colonies d'abeilles à proximité (Elzen *et coll.*, 1999). Elzen *et coll.* (1999) ont déterminé que les adultes CR étaient faiblement attirés par un mélange de miel, de pollen et d'abeilles adultes. Le meilleur appât trouvé jusqu'à maintenant est constitué de galettes de pollen sur lequel des adultes CR se sont nourris pendant 3-7 jours (Arbogast *et coll.*, 2007; Torto *et coll.*, 2007a) ou encore des galettes de pollen inoculées avec la levure *Kodamaea ohmeri* (NRRL Y-30722) (Arbogast *et coll.*, 2009a; Torto *et coll.*, 2007a). De plus, ces pièges doivent être placés à proximité des colonies, car il existe une corrélation négative du pouvoir attractif des pièges avec la distance (Arbogast *et coll.*, 2009a). Enfin, les pièges placés à l'ombre sont significativement plus efficaces que ceux placés en plein soleil (Arbogast *et coll.*, 2009a).

1.5.2 Pièges pour capturer les adultes à l'intérieur de la colonie d'abeilles

Les pièges placés à l'intérieur de la colonie pour capturer les adultes sont particulièrement utiles pour ralentir le développement de la population de CR (Ellis, 2005). En effet, en réduisant le nombre d'adultes CR dans les colonies, on réduit la quantité d'œufs pondus et, par le fait même, le nombre de larves présentes.

En général, tous les pièges installés dans la colonie fonctionnent avec le même principe. Il s'agit d'un contenant dans lequel sont percées des ouvertures qui laissent passer les CR adultes, mais qui sont trop petites pour que les abeilles puissent y pénétrer. Ceux-ci fuient les abeilles et la lumière. Ils sont, par conséquent, naturellement attirés vers ce type de piège. Une substance attractive peut également être ajoutée à l'intérieur. Une substance pouvant tuer les adultes CR est placée dans le piège. Il peut s'agir d'un pesticide de contact ou encore d'un liquide dans lequel les CR vont tomber et mourir par asphyxie. Le pesticide de contact utilisé est le coumaphos (organophosphatés) concentré à 10%, commercialisé sous le nom de CheckMite+ par la compagnie Bayer (Bayer Inc., 2010). C'est un pesticide déjà utilisé en apiculture pour lutter contre l'acarien *Varroa destructor*. L'efficacité du coumaphos contre le CR varie entre 53% et 95% de mortalité dans des essais réalisés dans des colonies d'abeilles domestiques (Baxter *et coll.*, 1999; Elzen *et coll.*, 1999; Neumann et Hoffmann, 2008). Pour ce qui est des types de liquides utilisés, Hood et Miller (2003) ont comparé plusieurs types de liquide au laboratoire et dans les colonies. Au laboratoire, l'huile minérale alimentaire et l'alcool 95% présentait tous deux un taux de mortalité de 99% tandis que le vinaigre de cidre de pommes présentait un faible taux de mortalité de 18%. Dans les colonies, ce sont les pièges avec du vinaigre de cidre de pommes qui ont capturé le plus de CR, probablement parce que ce liquide est attractif pour eux (Hood et Miller, 2003). Dans les mêmes essais au champ, l'alcool a été éliminé en raison de son taux d'évaporation trop élevé. L'huile minérale présentait un taux de mortalité intermédiaire. Les auteurs ont donc

recommandé d'utiliser une combinaison d'huile minérale et de vinaigre de cidre de pomme dans leurs pièges. Gillard (2008) est plus précis en recommandant de remplir deux compartiments du piège Hood™ avec de l'huile minérale et le troisième compartiment, de vinaigre de cidre de pommes.

L'efficacité de plusieurs pièges a été démontrée par des études scientifiques. C'est le cas du piège Hood™ (Hood, 2006), du bocal inséré dans le plateau inférieur (jar-bottom board trap (Hood, 2006)) et du plateau modifié contenant une galette de pollen inoculée avec *Kodamaea ohmeri* (Torto *et coll.*, 2007a). Certains autres pièges ont été commercialisés sans étude scientifique préalable, comme par exemple le AJ's Beetle Eater™ (Cobey, 2008) ou le Beetle Barn™. Ceux-ci sont l'invention d'apiculteurs débrouillards et le résultat de recherche de type essai/erreur. Enfin, il faut aussi mentionner que certaines modifications apportées à la ruche se sont avérées inefficaces pour empêcher les CR d'entrer et présentaient même certaines limites au développement de la colonie d'abeilles. Par exemple, l'utilisation d'une entrée réduite ou d'une entrée élevée n'empêchait pas nécessairement les CR de pénétrer dans la colonie et diminuait la production de couvain dans celles-ci (Ellis *et coll.*, 2003a; Hood et Miller, 2005). L'utilisation d'un plateau grillagé n'a pas non plus permis de réduire les populations de CR dans les colonies (Ellis et Delaplane, 2006).

Ces pièges peuvent, pour la plupart, se placer n'importe où dans la ruche. Il faut cependant les placer où ils risquent d'être le plus efficace, c'est-à-dire près de l'endroit où les CR adultes se regroupent. Lundie (1940) a remarqué que ceux-ci avaient tendance à se regrouper dans la partie arrière du plateau inférieur et sous l'entre-couvercle. Schmolke (1974) a observé que les CR se rassemblaient sur les cadres en périphérie de la colonie, où le nombre d'abeilles est moins élevé, mais n'a pas observé d'attroupement sur le plateau inférieur. Torto *et coll.* (2007a) ont capturé plus de CR adultes dans leurs pièges placés sur le plateau inférieur que ceux placés sur le dessus de la colonie, surtout quand la population de CR était

élevée (Delaware et Pennsylvanie, juillet et août 2004). Enfin, Neumann et Hoffmann (2008) recommandent d'utiliser des pièges placés sur le plateau inférieur pour estimer la population de CR et d'effectuer un premier contrôle, étant donné que les adultes semblent être capturés près de l'endroit où ils pénètrent dans la colonie, c'est-à-dire, par l'entrée. Ils recommandent aussi de placer des pièges à d'autres endroits dans la colonie (par exemple les côtés de la ruche, les cadres en périphérie et le dessus de cadres), étant donné que seulement $43 \pm 27\%$ des CR adultes étaient capturés dans des pièges placés sur le plateau inférieur. Cependant, il n'existe aucune donnée sur la dynamique de population de CR au cours de la saison apicole canadienne. L'étude de Neumann et Hoffmann (2008) a été réalisée seulement durant un mois, au printemps, en Australie. Nul ne sait si les CR adultes se déplacent dans la colonie en fonction de la quantité de miel ou de pollen trouvé dans la colonie, ou de d'autres facteurs.

1.5.3 Pièges pour capturer les larves à l'extérieur de la colonie d'abeilles

Les pièges utilisés pour capturer les larves migrantes à l'extérieur de la colonie pourraient permettre de réduire à long terme la population de CR et réduire les dommages plus tard dans la saison, ou encore, pour la saison suivante. Les dommages immédiats ne sont cependant pas évités, car les larves migrantes se sont déjà nourries avant de sortir de la colonie. Le principal piège utilisé est le piège Teal™ ou un dérivé de celui-ci (Arbogast *et coll.*, 2012), dont l'efficacité à capturer les larves migrantes variait de 87,2 à 94,2%.

1.6 Recherche proposée

La présente recherche se divise en deux volets. Dans un premier temps, elle vise à mieux connaître la phénologie du petit coléoptère de la ruche (CR), principalement en ce qui a trait au développement de la puppe dans le sol. Les combinaisons de température et de contenu en eau du sol que nous avons choisies, représentatives du contexte climatique québécois et ontarien, n'ont, à notre connaissance, jamais été testées.

Dans un deuxième temps, ce projet vise à tester des moyens de dépistage et de capture du CR qui s'avèreront économiques et faciles à utiliser, afin d'inciter les apiculteurs québécois à y avoir recours. Ces pièges doivent être efficaces, sans nuire à la productivité de la colonie, c'est-à-dire à la population d'abeilles et à la récolte en miel.

Les résultats de ce projet permettront un meilleur contrôle du CR au Canada, tant de façon directe, par l'utilisation des pièges, que de façon indirecte, en connaissant les conditions limitant le développement et la survie de la puppe de CR.

1.7 Hypothèses du projet

Les hypothèses de ce projet de recherche se divisent en deux volets, soit
1) influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du CR et;
2) utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes CR.

Influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*)

Hypothèse générale

L'hypothèse générale de ce premier volet est la suivante : la température et la teneur en eau du sol influencent le développement de la pupe du CR et a, par conséquent, une influence sur les adultes émergents (sexe ratio, survie).

Hypothèses spécifiques

- L'augmentation de la température du sol entraîne une diminution du temps de développement de la pupe du CR;
- La diminution du contenu en eau du sol diminue le taux de survie de la pupe;
- La température influence le sexe ratio des adultes;
- La température influence la survie des adultes émergents.

Utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*)

Hypothèse générale

L'hypothèse générale de ce second volet est la suivante : les pièges permettent de diminuer l'impact négatif associé au CR dans les colonies d'abeilles domestiques.

Hypothèses spécifiques

- Les pièges permettent une diminution significative de la population de CR adultes dans les colonies d'abeilles domestiques;
- Le Beetle Barn™ a une meilleure efficacité relative pour capturer les adultes CR;
- Les pièges n'affectent pas la productivité de la colonie;
- Le piège Teal™, placé à l'entrée de la colonie pour capturer les larves migrantes, permet de déterminer le niveau d'infestation de la colonie par les adultes CR.

1.8 Objectifs du projet

Les objectifs de ce projet de recherche se divisent en deux volets, soit
1) influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du CR; et
2) utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes CR.

Influence des facteurs édaphiques sur le développement pupal du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*)

Objectif général

L'objectif général de ce premier volet est de déterminer les effets de températures froides et de divers contenus en eau du sol sur le développement de la pupe du CR.

Objectifs spécifiques

- Déterminer l'influence de températures et de teneurs en eau du sol sur le taux de survie de la pupe du CR;
- Déterminer l'influence de températures et de teneurs en eau du sol sur le temps d'émergence (durée du développement) de la pupe du CR;
- Déterminer le sexe ratio des adultes émergents en fonction de la température et de la teneur en eau du sol;
- Déterminer si la durée de vie des adultes émergents est influencée par la température et la teneur en eau du sol.

Utilisation de pièges mortels dans la colonie d'abeilles comme méthode de capture des adultes du petit coléoptère de la ruche (*Aethina tumida*)

Objectif général

L'objectif général de ce deuxième volet de recherche est d'évaluer l'efficacité de divers pièges installés dans la colonie à diminuer l'impact des populations de CR sur les colonies d'abeilles domestiques.

Objectifs spécifiques

- Réduire les populations de CR dans les colonies d'abeilles domestiques par l'utilisation de pièges;
- Déterminer l'influence des pièges sur la productivité de la colonie;
- Déterminer l'efficacité relative des trois pièges;
- Déterminer s'il existe une corrélation entre le nombre de larves migrantes sortant de la colonie et le niveau d'infestation de celle-ci.

Chapitre II

Pupal development of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae)
in different thermo-hygrometric soil conditions

Ce manuscrit sera soumis au ***Journal of Economic Entomology*** pour révision par les pairs et publication. L'auteure principale est Martine Bernier. Les co-auteurs sont Valérie Fournier, Ph.D., (Centre de recherche en horticulture, Université Laval) et Pierre Giovenazzo, Ph.D., (Centre de recherche en sciences animales de Deschambault).

Résumé

Le développement de la puppe d'*Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae) a été étudié dans un sol organique à des températures de 16, 18 et 20°C et à un contenu en eau volumique de 0,37, 0,56 et 0,73 m³ d'eau par m³ de sol sec. Ces valeurs représentent les conditions édaphiques retrouvées dans le sud-est du Canada. La survie de la puppe, son temps de développement, le sexe ratio et la survie des adultes émergents furent observés dans des chambres de croissance. Environ 50 larves du troisième stade furent placées dans des contenants en plastique contenant 0,12 kg de sol organique pasteurisé. Les résultats démontrent que la survie de la puppe augmente avec l'augmentation de température, mais diminue avec l'augmentation du contenu en eau du sol. Le temps de développement de la puppe augmente avec la diminution de température (69 à 78 jours à 16°C, 47 à 54 jours à 18°C et 36 à 39 jours à 20°C) et avec la diminution du contenu en eau du sol. Le contenu en eau du sol optimal pour le développement de la puppe est de 0,56 m³/m³. Le sexe ratio des adultes émergents est influencé par le contenu en eau du sol. Dans un sol sec ou intermédiaire, le sexe ratio est de 1♀:1♂ tandis qu'il est de 3♀:1♂ dans un sol presque à saturation. La durée de vie des adultes est aussi influencée par le contenu en eau du sol. Celle-ci diminue avec l'augmentation du contenu en eau du sol. Cette étude contribue à une meilleure compréhension de la phénologie du petit coléoptère de la ruche en contexte climatique canadien.

Abstract

The pupal development of *Aethina tumida* was studied at various combinations of thermo-hygrometric soil conditions (16, 18 and 20°C and soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil) representative of south-eastern Canada. Survivorship and development duration of *A. tumida* pupa, as well as sex ratio and lifespan of emerging adults were assessed. Assays were conducted in growth chambers on an average of 50 third instar larvae per thermo-hygrometric combination. Results show that survivorship of pupae decreased with lower temperature and higher soil moisture. Pupal development time shortened as temperature increased (69 to 78 days at 16°C, 47 to 54 days at 18°C and 36 to 39 days at 20°C) but was longer in dryer soil. Optimal soil water content for pupa development was 0.56 m³/m³. Sex ratio of emerging adults was influenced by soil water content. We measured one female to one male for dry and intermediate soil water content and three females to one male for wet soils. Higher soil moisture reduced the lifespan of emerging adults by half. This study contributes to a better understanding of *A. tumida* population dynamics in eastern Canada.

2.1 Introduction

Aethina tumida Murray (Coleoptera: Nitidulidae) or the small hive beetle (SHB), is a honey bee pest indigenous to South Africa (Lundie, 1940). Adult SHB, known to live several months (Lundie, 1940; Haque and Levot, 2005; Meikle and Patt, 2011; Murrle and Neumann, 2004), infiltrate honey bee colonies to lay their eggs and allow their larvae to feed and develop. The larvae cause significant damage, while their associated yeast, *Kodamaea ohmeri* (Torto *et al.*, 2007b), causes the honey to ferment (Lundie, 1940; Elzen *et al.*, 1999) and thus lose its nutritional value. High infestation rates will cause the colony to collapse (Elzen *et al.*, 1999).

This pest was accidentally introduced in 1998 in the state of Florida, in the United States (Thomas, 1998) and in 2002 in Australia (Somerville, 2003). First occurrences of the SHB in Canada were observed in 2002 (Manitoba) and 2006 (Alberta and Manitoba) without any sign of population survival after winter (Dixon and Lafrenière, 2002; Lafrenière, 2006; Nasr, 2006). In south-eastern Canada (southern Québec), a SHB invasion was discovered during the fall of 2008 (Giovenazzo and Boucher, 2010). Presence of SHB in this region can be attributed to the invasion of flying beetles across the US border (Giovenazzo and Boucher, 2010). More recently, the pest was also reported in Ontario (Kozak, 2010) and again in Manitoba (2012). The damage caused by SHB in Canadian honey bee colonies is not as significant as that experienced in the southern USA (Florida, Georgia and South Carolina). The colder Canadian climate may explain why SHB populations have failed to establish to date.

At the pupal stage, the SHB is particularly vulnerable to the impact of both climatic factors and predators. SHB death was only observed at this stage when reared at temperatures of 24-28 and 34°C (de Guzman and Frake, 2007). Thus, Lundie (1940) and Ellis *et al.* (2004) have suggested that environmental factors may limit or improve the reproduction potential of SHB. Because SHB pupate in the

soil, edaphic factors including soil type, moisture and density, field slope, drainage, rainfall and temperature greatly influence this stage of their development (de Guzman *et al.*, 2009). Soil temperature (de Guzman and Frake, 2007; de Guzman *et al.*, 2009; Meikle and Patt, 2011) and soil moisture (Lundie, 1940; Schmolke, 1974; Ellis *et al.*, 2004; Haque and Levot, 2005) have the greatest impact, in part because soil humidity is required for pupal development and survivorship (Lundie, 1940; Haque and Levot, 2005). Pupae of other beetles are also known to desiccate and die when exposed to dry weather, whereas moist soils provide a more favorable environment (*Cerotoma trifurcate* Forster, (Eddy and Nettles, 1930)). Finally, soil type does not seem to affect the development of SHB pupae (Schmolke, 1974; Ellis *et al.*, 2004; de Guzman *et al.*, 2009).

Pupal development has been tested at temperatures between 21 and 35°C (Neumann *et al.*, 2001; Murrle and Neumann, 2004; Ellis *et al.*, 2004; Haque and Levot, 2005; de Guzman and Frake, 2007; de Guzman *et al.*, 2009; Meikle and Patt, 2011), which are representative of climatic conditions in Africa, the southern US and Australia. Moreover, Pettis (2003) observed little to no development below 10°C and the SHB is known to die at temperatures below 0°C (Jacobson, 2005). Nonetheless, soil temperatures in Canada during beekeeping season can range between 10 and 21°C. To our knowledge, pupal development has not been tested at these temperatures and thus should be investigated to gain knowledge on SHB reproduction in temperate climates. Furthermore, seasonal rainfall is an important indicator of SHB population growth (Torto *et al.*, 2010). Only a few studies have mentioned the importance of soil moisture. Neumann *et al.* (2001), Murrle and Neumann (2004), de Guzman and Frake (2007) and de Guzman *et al.* (2009) experimented with SHB in moist soils, but did not measure soil water content, while Haque and Levot (2005) and Meikle and Patt (2011) did not compare several soil moisture levels. Ellis *et al.* (2004) compared two soil water levels (0% and 11% water by weight) and concluded that dry soil was unsuitable for pupal

development. However, a water content of 0% is not representative of field conditions because soil always retains a certain amount of water (Buckman and Brady, 1960).

The objective of this study was to investigate SHB pupal development at various thermo-hygrometric soil conditions similar to those observed in southeastern Canada. We also measured SHB sex ratio and lifespan of emerging adults.

2.2 Materials and Methods

2.2.1 Small hive beetle rearing

Adult beetles, both males and females, were collected in May 2010 from infested honey bee colonies located in West-Montérégie, southern Québec, Canada (N45.003983. W74.449317). These SHB were used to establish an experimental population reared in growth chambers (Conviron, model PGR15 and E15) at Laval University, Québec, Canada. The growth chambers were kept in darkness (0L:24D), at $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 50-60% relative humidity. Adult beetles were placed in 550 mL plastic containers (10 cm diameter, 7 cm deep) with perforated screw-top lids fitted with a mesh cloth to prevent escape and provide air circulation. Four moistened cotton balls provided sufficient humidity in plastic containers. Adults and larvae were fed *ad libitum* with honey bee pollen.

2.2.2 Pupal development

Survival rate and duration of pupation in soil were measured in growth chambers (Conviron, model PGR15 and E15) at temperature of 16, 18 and 20°C and at soil moisture content levels of 0.37, 0.56 and 0.73 m^3 of water per m^3 of dry soil. These values correspond, in an organic soil, to dry, intermediate and wet (near saturation) soil. Organic potting soil (Pro-mix® by Premier Tech, bulk density of 0.293 g/cm^3) was pasteurized (30 minutes at 60°C) and oven dried (40°C for 48 hours). Sterilized water (150 mL, 230 mL and 300 mL) was added to the dry soil (0.12 kg) to obtain the different soil water content levels. Probes were used to record soil temperature (12-Bit Temp Smart Sensor S-TMB-M006, Onset® HOBO® Data Loggers, Massachusetts, USA) and soil moisture (EC-5 Moisture sensor S SMC-M005, Decagon Devices, Pullman, Washington, USA). They were inserted to

a depth of 3 cm and recorded data every 15 minutes. Mature larvae (wandering stage) were placed in plastic containers with specific thermo-hygrometric soil conditions and allowed to burrow naturally into the soil. Larvae of the same age were obtained from five sexually mature females and males that mated and laid eggs over a 24-hour period. Young larvae that developed afterwards were fed *ad libitum* with pollen and water for 15 days. On day 15, these larvae were distributed equally into the 9 different experimental groups (3 different temperatures X 3 different soil water contents). Further details on the experimental design are provided in the Statistics section.

Plastic containers were examined daily to monitor adult emergence. Pupation duration at each temperature and water content combination was measured, and emerging adults were counted. Soil was then searched for any dead SHB at any life stage.

2.2.3 Sex ratio and lifespan of emerging adults

Emerging adults were collected with an aspirator (Schmolke, 1974; Ellis *et al.*, 2004). They were then sexed by applying gentle pressure on their abdomen with finger tips to reveal either the female's ovipositor or the male's 8th tergite (de Guzman and Frake, 2007). All emerging adults were placed by couples in 50 mL plastic tubes (Starstedt™) containing a moistened cotton ball and pollen *ad libitum*. These tubes were covered with a perforated lid to provide air circulation. If an adult died, the date was recorded and it was replaced with another adult of the same treatment and gender if available (Meikle and Patt, 2011). The date was recorded at the onset of egg laying and the couple was transferred into a 550 mL plastic container of the type used for insect rearing. Newly emerged larvae were removed daily and counted.

2.2.4 Statistics

We used a split-plot experimental design with temperature as main plot and water contents of soil as subplot. The temperatures were randomized into a 3x3 Latin square with blocks (date) as rows and growth chambers as columns. There were three repetitions for the temperatures 18 and 20°C and two repetitions for 16°C. Each soil water content level was repeated twice per growth chamber. Data were analysed using SAS Software (SAS Institute 2000, Version 9.2). Pupal development length and lifespan of emerging adults were analysed using proc Mixed, with temperatures and soil moistures as fixed effects. Regression parameters for pupal development time were estimated with proc Mixed. Data for pupal survival rate and sex ratio of emerging adults were transformed with arcsine square-root to reach normality and were analysed using proc GLIMMIX with a binomial distribution, with temperatures and soil moistures as fixed effects. LSD tests were used to compare treatment means. Regression parameters for survival rate were estimated with proc GLIMMIX. Logit model was used for the binomial distribution. Finally, for sex ratio results, a post hoc comparison was made for soil water content effect and Bonferroni adjustments were made for *t-value* probability to account for multiple comparisons. Starting dates of the different experimental blocks are listed below, with each experimental block consisting of 9 experimental conditions (3 temperatures X 3 soil water content levels):

- Block 1 (July 8th, 2011): a total of 972 larvae were produced and 54 larvae were put into each treatment (3 temperatures x 3 soil water content).
- Block 2 (October 11th, 2011): a total of 1224 larvae were produced and 68 were put into each treatment (T x soil water content).
- Block 3 (January 18th, 2012): a total of 774 larvae were produced and 43 larvae were put into each treatment (T x soil water content).

2.3 Results

2.3.1 Pupal development

Analysis of variance showed significant soil temperature x moisture effect on survival rate of pupae ($F = 15.91$; $df = 4,28$; $P < 0.0001$). The survival rate was higher at 20°C for water content of 0.37 and 0.56 m³ of water per m³ of soil (respectively 97.39% ± 1.73 and 97.82% ± 1.49) and at 18°C for water content of 0.37 and 0.56 m³/m³ (respectively 90.25% ± 4.20 and 89.03% ± 4.62). Pupae that developed at 16°C had a significantly lower survival rate than those that developed at 18 and 20°C. However, at 16°C, the survival rate was higher for water content of 0.56 m³/m³ (22.86% ± 8.14) than for water content of 0.37 m³/m³ (14.71% ± 5.89) and 0.73 m³/m³ (12.46 % ± 5.80). In wet soils (0.73 m³/m³), the survival rate was low (41.59% ± 11.21 at 18°C and 38.26% ± 13.34 at 20°C). High soil water content and temperature of 16°C were limiting factors on the development of *A. tumida* pupae (Table 4 and Fig. 5). The regressions for survival rate according to water content were significant ($F = 29.89$; $df = 1,28$; $P < 0.0001$; AUROC = 0.91 for 0.37 m³/m³; $r^2 = 0.88$ for 0.56 m³/m³ and $r^2 = 0.67$ for 0.73 m³/m³) (Fig. 5).

Pupal development time was affected by soil temperature and soil moisture ($F = 5.23$; $df = 4,28$; $P = 0.0028$). Mean development time was 72.9 days at 16°C, 50.3 days at 18°C and 38.0 days at 20°C (all moistures combined). At 16 and 18°C, development time was longer for pupae in a soil water content of 0.37 m³/m³ than at 0.56 m³/m³ and 0.73 m³/m³. At 20°C, there was no significant difference between the three different soil water content levels (38.32d ± 2.24 at 0.37 m³/m³, 36.74d ± 2.24 at 0.56 m³/m³ and 38.97d ± 2.34 at 0.73 m³/m³). Lower temperature increased the duration of pupal development, as did dry soils at temperatures below 18°C (Table 5 and Fig. 6). The regressions of pupal development time according to soil water content were significant ($F = 31.01$, $df = 1,28$, $P < 0.0001$;

$r^2 = 0.97$ for $0.37 \text{ m}^3/\text{m}^3$; $r^2 = 0.99$ for $0.56 \text{ m}^3/\text{m}^3$ and $r^2 = 0.98$ for $0.73 \text{ m}^3/\text{m}^3$) (Fig. 6). The development time of females did not differ from that of males ($F = 0.1700$; $df = 1,28$; $P = 0.6807$). Not all unemerged adults could be recovered. Moreover, some of the dead larvae were colonized by an unidentified fungus.

2.3.2 Sex ratio and lifespan of emerging adults

Sex determination of *A. tumida* was not altered by temperature ($P = 0.3683$), but soil moisture effect was marginally significant ($P = 0.0659$). Post hoc contrast was conducted, and was significant when comparing soil moistures of 0.73 vs 0.37 and 0.56 ($F = 5.97$; $df = 1,28$; $P = 0.0211$) after a Bonferroni adjustment ($\alpha = 0.025$). The proportion of females was 0.51 ± 0.03 at $0.37 \text{ m}^3/\text{m}^3$, 0.52 ± 0.03 at $0.56 \text{ m}^3/\text{m}^3$ and 0.73 ± 0.07 at $0.73 \text{ m}^3/\text{m}^3$ (Table 6). In dry or intermediate soils, the sex ratio was $1\text{♀}:1\text{♂}$, while in wet soils, the ratio was $3\text{♀}:1\text{♂}$.

Lifespan of emerging adults was significantly altered by soil water content ($F = 8.34$; $df = 2,33$; $P = 0.0012$). Adults that developed at 0.37 and $0.56 \text{ m}^3/\text{m}^3$ lived twice as long as adults at $0.73 \text{ m}^3/\text{m}^3$ (Table 7). However, lifespan of emerging adults was not affected by temperature ($F = 12.06$; $df = 2,1$; $P = 0.1995$) or sex ($F = 2.88$; $df = 1,28$; $P = 0.1006$).

2.4 Discussion

2.4.1 Survival rate of pupae

Pupal survivorship was influenced by both temperature and soil moisture. Survivorship was over 89% at 18 and 20°C with low (0.37 m³/m³) and intermediate (0.56 m³/m³) soil water content. Neumann *et al.* (2001) reported lower emergence (42.6%) at a similar temperature range (17-24°C) in a moist soil (unknown water content). However, they explained high mortality by the limited space available to larvae (2.3 cm³/larva). In our experiment, each larva had between 6.0 and 9.5 cm³ of available soil. At 20°C, we measured the highest survivorship (97.39% and 97.82%) in dry and intermediate soil water content, which is similar to findings in previous experiments. Ellis *et al.* (2004) found an emergence level of 91.5% in a mineral soil at 24.6 ± 1.3°C and 10% water by weight, and de Guzman and Frake (2007) measured 93% survival in moist potting soil at 24-28°C (unknown water content). Meikle and Patt (2011) measured 92% pupal emergence at 21°C (soil moisture of 5-8% by weight in sandy soil). Marrone and Stinner (1984) also found high mortality in wet soils (soil water tension = 10 kPa) with the pupa of the bean leaf beetle (*Cerotoma trifurcate* Forster) at all temperatures tested (20, 25 and 30°C). However, the total survivorship, from egg to adult, was higher in wet soils (Marrone and Stinner, 1984). In our study, the survivorship of *A. tumida* pupae remained high even at 18°C, when the moisture level was adequate without the soil being soaked. However, the impact of soil moisture should be compared among studies with caution since the amount of available water varies with soil texture (Villani and Wright, 1990) and organic matter content (Buckman and Brady, 1960). Ellis *et al.* (2004) recommend that honey bee colonies be placed away from agricultural soils, which are moist, tilled and suitable for SHB pupation.

Meikle and Patt (2011) and Pettis (2003) have suggested that the minimal temperature for SHB development is near 10°C. At 16°C, we found a survival rate between 12.46 and 22.86% and regression equations allowed us to estimate a survival rate of 1% at 13°C. These findings suggest that the minimal temperature required for SHB development is higher than the above mentioned previous estimate. SHB development may thus be limited by the cold soil temperatures that prevail in southern Canada in spring, winter and fall.

2.4.2 Pupal development time

As has been observed in other insects (Samara *et al.*, 2011), the development time of SHB pupae decreased as temperature increased. The range of emergence is also narrower as temperature increases. At similar temperatures (17-24°C) and in moistened soil (unknown water content), Neumann *et al.* (2001) found that pupae took 36 to 53 days to complete metamorphosis, which is a wide range of emergence time. Murre and Neumann (2004) measured a pupation period of 24.68 ± 1.75 days at room temperature (18-25°C) and in moistened mineral soil (unknown water content). At 21°C, Meikle and Patt (2011) found a pupation period of 32.7 days in a moist (5-8% by weight) sandy soil. They also estimated a development time of 70 days at 15°C and 174 days at 12°C. At 16°C (lowest temperature tested), pupal development time was between 69.06 and 78.14 days. Meikle and Patt (2011) made a very similar prediction, but at 15°C, we estimate that development time would be between 82 and 93 days. Development time is also influenced by soil water content, as it is for other insects. For the pupa of the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcate* Forster (Marrone and Stinner, 1984), development time is shortest in wet soils (soil water tension = 10 kPa) and longest in dry soils (soil water tension = 1000 kPa). These water content values for organic soils are close to the values of our study. Finally, knowledge of SHB development time at soil temperatures similar to those measured in southern Canada allows us to estimate the generation potential of this pest at up to two generations per year,

which is consistent with observations made by Eccles (Director of the Ontario Technical transfer team, personal communication, 2012).

2.4.3 Sex ratio of emerging adults

In our study, sex ratio did not depend on temperature as observed by de Guzman and Frake (2007). Only soil water content was significant. We found an unbiased sex ratio of one female to one male in dry and intermediate soil, as observed by de Guzman and Frake (2007). However, we found a biased sex ratio of three females to one male in wet soils, which differs from reports by Neumann *et al.* (2001), Ellis *et al.* (2002a), Ellis *et al.* (2002b), Ellis *et al.* (2004) and Murrle and Neumann (2004). It is the first known report of a 3:1 sex ratio affected by soil moisture for SHB. We hypothesize that males may be negatively affected by soil moisture and die more readily than females. They may also be more affected by soil fungi.

2.4.4 Lifespan of emerging adults

In our study, the lifespan of adult beetles was significantly affected by soil moisture. However, the highest average lifespan we observed in emerging adults was 12.3 ± 1.2 days in dry soils, which is significantly lower than the 188 days reported by Lundie (1940) or the nine weeks reported by Murrle and Neumann (2004). Our rearing methods for emerging adults (in plastic tubes) may have reduced their lifespan. We noticed that cotton balls were occasionally soaked instead of moistened, and dead beetles were found in the liquid that accumulated underneath them. Sometimes larvae were not removed quickly enough and clogged the perforations in the lid with their feces. The fermentation produced in the tube may also have caused the adults to asphyxiate. Despite these low

lifespan, our findings on temperature and soil moisture levels requirement for pupal development constitute new knowledge on SHB in south-eastern Canadian climate. Under these conditions, SHB pupal development appears to be limited when soil temperatures drop below 16°C. Canadian honey bee colonies may thus benefit from a certain climatic protection from this invasive pest.

Acknowledgements

We would like to thank Conrad Cloutier, professor in the Biology department of Université Laval, for his precious advice on insects and temperature. Our thanks to Guillaume Théoux-Rancourt, Jonathan Lafond, Yann Périard and Steeve Pépin for their advice on soil properties. We would also like to thank Carole Martinez for technical support, time and availability. This research was funded by the Quebec Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ) and NSERC-CANPOLIN.

Table 4 Mean percent survival rate \pm SE for pupae of *Aethina tumida* at 16, 18 and 20°C and soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil

| Temperature (°C) | Soil water content (m ³ /m ³) | Survival rate (%) | | | | |
|---------------------|---|----------------------|-------|-------|---|----|
| 16 | 0.37 | 14.71 | \pm | 5.89 | B | b |
| | 0.56 | 22.86 | \pm | 8.14 | A | c |
| | 0.73 | 12.46 | \pm | 5.80 | B | b |
| 18 | 0.37 | 90.25 | \pm | 4.20 | A | a |
| | 0.56 | 89.03 | \pm | 4.62 | A | b |
| | 0.73 | 41.59 | \pm | 11.21 | B | a |
| 20 | 0.37 | 97.39 | \pm | 1.73 | A | a |
| | 0.56 | 97.82 | \pm | 1.49 | A | a |
| | 0.73 | 38.26 | \pm | 13.34 | B | ab |

Note: Means followed by the same letter are not significantly different at $p = 0.05$ (LSD test). Capital letters are for comparisons among moistures within one temperature. Lower case letters are for comparisons among temperatures within one moisture level.

Table 5 Mean development time of *Aethina tumida* pupae \pm SE at 16, 18 and 20°C and soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil

| Temperature (°C) | Soil water content (m ³ /m ³) | Development time (d) | | | | |
|---------------------|---|-------------------------|-------|-----|---|---|
| 16 | 0.37 | 78.1 | \pm | 2.1 | A | a |
| | 0.56 | 69.1 | \pm | 2.1 | B | a |
| | 0.73 | 71.6 | \pm | 2.3 | B | a |
| 18 | 0.37 | 54.4 | \pm | 2.1 | A | b |
| | 0.56 | 48.9 | \pm | 2.1 | B | b |
| | 0.73 | 47.6 | \pm | 2.2 | B | b |
| 20 | 0.37 | 38.3 | \pm | 2.2 | A | c |
| | 0.56 | 36.8 | \pm | 2.2 | A | c |
| | 0.73 | 39.0 | \pm | 2.3 | A | c |

Note: Means followed by the same letter are not significantly different at $p = 0.05$ (LSD test). Capital letters are for comparisons among moistures within one temperature. Lower case letters are for comparisons among temperatures within one moisture level.

Table 6 Proportion of *Aethina tumida* females in soil water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil

| Soil water content (m ³ /m ³) | Proportion of females | | | |
|---|-----------------------|---|------|---|
| 0.37 | 0.51 | ± | 0.03 | A |
| 0.56 | 0.52 | ± | 0.03 | A |
| 0.73 | 0.73 | ± | 0.07 | B |

Note: Means followed by the same letter are not significantly different at p = 0.025 (Bonferroni test).

Table 7. Lifespan of emerging *Aethina tumida* adults in water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil

| Soil water content (m ³ /m ³) | Lifespan (days) | | | |
|---|--------------------|---|-----|---|
| 0.37 | 12.3 | ± | 1.2 | A |
| 0.56 | 11.9 | ± | 1.2 | A |
| 0.73 | 6.0 | ± | 1.2 | B |

Note: Means followed by the same letter are not significantly different at p = 0.05 (LSD test).

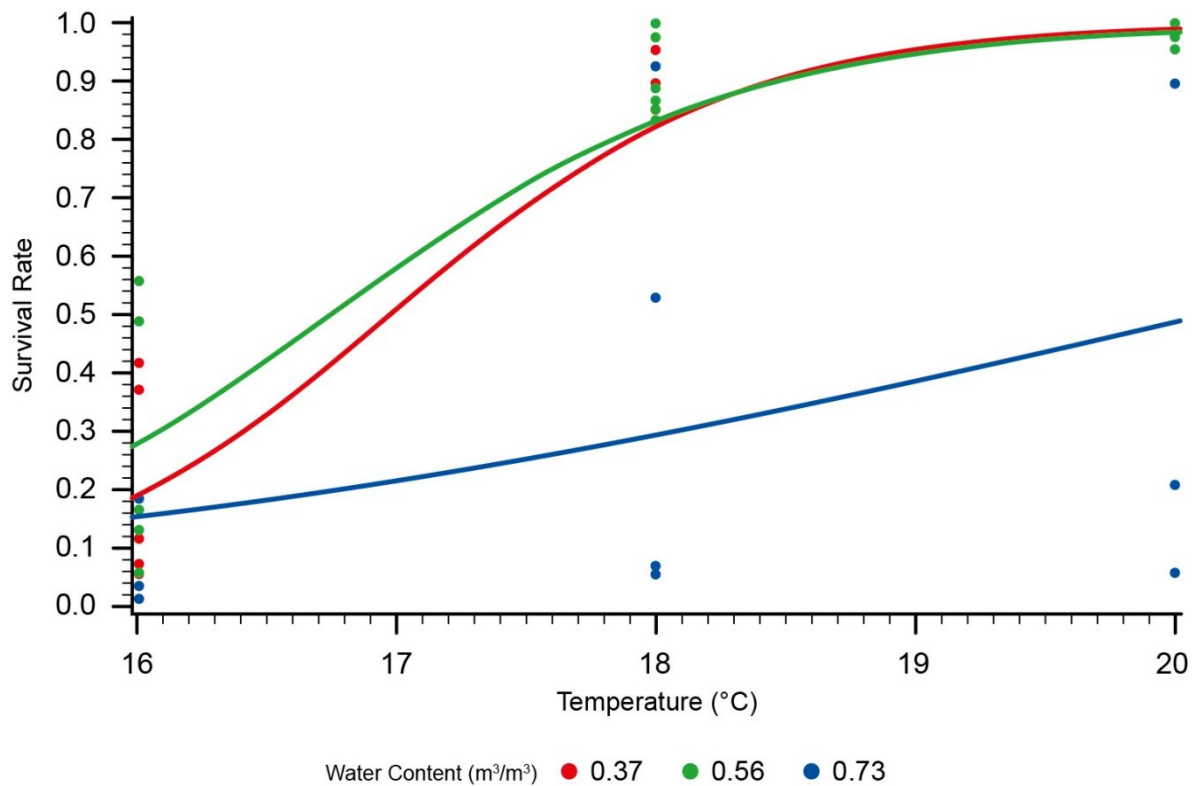


Figure 5 Survival rate of *Aethina tumida* pupae at temperatures of 16, 18 and 20°C and water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil (Linear equations in logit model for regression).

Equations:

Survival rate in soil of 0.37 m³/m³ : $[\text{EXP} (1.5320 + 1.4950 (t-18))] / [1 + \text{EXP} (1.5320 + 1.4950 (t-18))]$

Survival rate in soil at 0.56 m³/m³ : $[\text{EXP} (1.6041 + 1.2786 (t-18))] / [1 + \text{EXP} (1.6041 + 1.2786 (t-18))]$

Survival rate in soil at 0.73 m³/m³ : $[\text{EXP} (-0.8795 + 0.4152 (t-18))] / [1 + \text{EXP} (-0.8795 + 0.4152 (t-18))]$

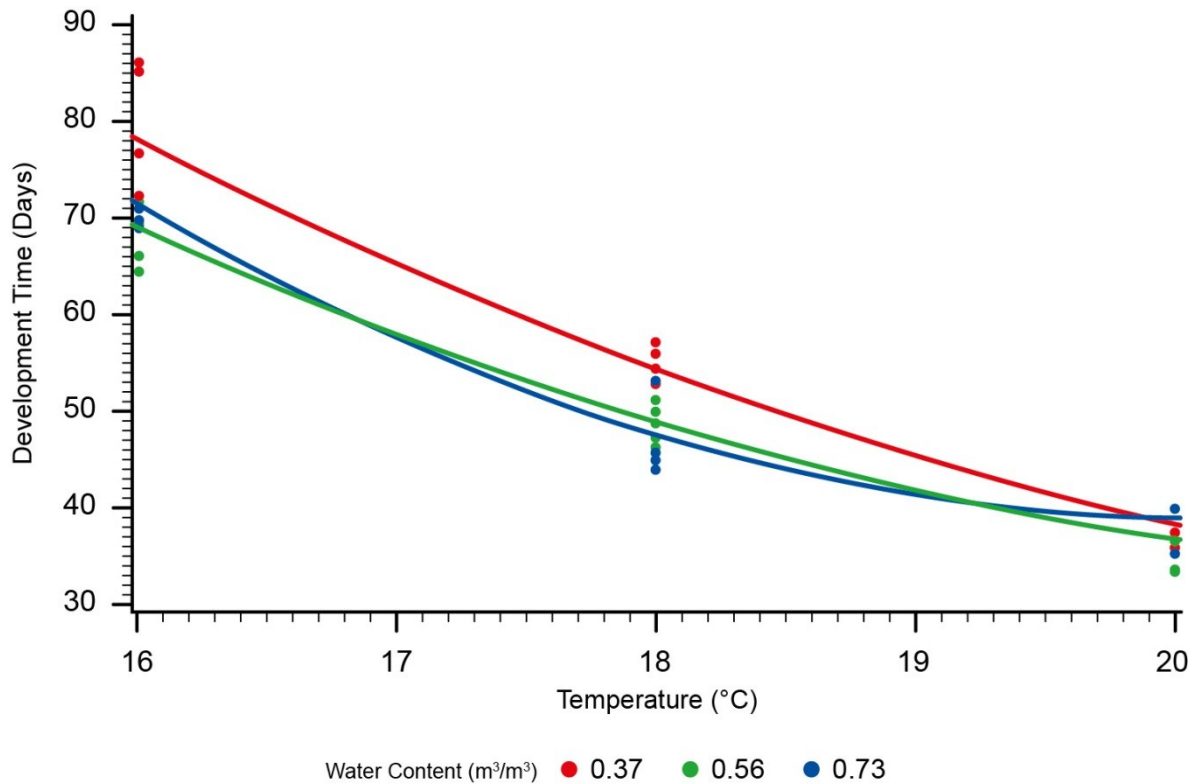


Figure 6 Development time of *Aethina tumida* pupae at temperatures of 16, 18 and 20°C and water contents of 0.37, 0.56 and 0.73 m³ of water per m³ of dry soil (Quadratic equations for regression).

Equations:

Development time in soil of 0.37 m³/m³ : $54.4041 - 9.9536 (t-18) + 0.9576 (t-18)^2$

Development time in soil at 0.56 m³/m³ : $48.9409 - 8.0786 (t-18) + 0.9911 (t-18)^2$

Development time in soil at 0.73 m³/m³ : $47.5765 - 8.1446 (t-18) + 1.9216 (t-18)^2$

Chapitre III

Control of the small hive beetle, *Aethina tumida*
(Coleoptera: Nitidulidae), using deadly in-hive traps

Ce manuscrit sera soumis au journal *The Canadian Entomologist* pour révision par les pairs et publication. L'auteure principale est Martine Bernier. Les co-auteurs sont Valérie Fournier, Ph.D., (Centre de recherche en horticulture, Université Laval) et Pierre Giovenazzo, Ph.D., (Centre de recherche en sciences animales de Deschambault).

Résumé

Le petit coléoptère de la ruche (CR), *Aethina tumida* est un ravageur apicole nouvellement arrivé au Canada. L'efficacité de quatre modèles de pièges fut testée au printemps, en Montérégie-Ouest, au sud du Québec, et à la fin de l'été, dans le Comté d'Essex, au sud de l'Ontario : le AJ's Beetle Eater™ (AJ's Beetle Eater), le Beetle Barn™ (Rossmann Apiaries), le piège Hood™ (Rocky Mountain Bee Farm) et le piège Teal™. En Montérégie-Ouest, les pièges furent placés dans la chambre à couvain inférieure de 12 colonies tandis que dans le comté d'Essex, les pièges furent installés dans la hausse à miel supérieure de 48 colonies d'abeilles domestiques. Les pièges utilisés dans la colonie ont significativement réduit la population de CR par rapport aux colonies témoins. Ils n'ont pas eu d'effet sur la population d'abeilles immatures, ni sur la récolte en miel. En Montérégie-Ouest, le Beetle Barn™ a été le piège le plus efficace à la première date de récolte, lorsque la densité de population de CR était élevée. Cependant, les abeilles bouchent les ouvertures de ce piège et il perd de son efficacité lorsque plus de trois ouvertures sont scellées. Dans le comté d'Essex, le AJ's Beetle Eater™ fut significativement plus efficace que tous les autres pièges. L'utilisation d'huile minérale ou du mélange d'huile minérale et de vinaigre de cidre de pommes dans le piège Hood™ n'a pas influencé l'efficacité de capture. Enfin, le piège Teal™ est un bon moyen de briser le cycle de reproduction du CR, mais il ne permet pas d'estimer le niveau d'infestation des colonies d'abeilles.

Abstract

The small hive beetle (SHB), *Aethina tumida*, is an invasive pest of honey bees newly introduced to Canada. The effectiveness of four traps was tested in springtime in West-Montérégie (southern Quebec) and in late summer in Essex County (southern Ontario): AJ's Beetle Eater™ (AJ's Beetle Eater), Beetle Barn™ (Rossmann Apiaries), Hood™ trap (Rocky Mountain Bee Farm) and Teal™ trap. Traps were placed in the brood chamber of 12 colonies in West-Montérégie, and in 48 colonies in the top honey super in Essex County. In-hive traps were effective in reducing SHB population without compromising the bee population or honey yield. In West-Montérégie, the Beetle Barn™ was the most effective, but only when SHB populations were large. It was less effective when honey bees sealed trap openings with propolis. In Essex County, the AJ's Beetle Eater™ was the most effective throughout the season. There was no difference in efficacy between the various solutions used in the Hood™ trap (mineral oil vs mineral oil and apple cider vinegar). Finally, Teal™ traps helped break the SHB reproduction cycle, but do not allow estimation of the extent of beetle infestation.

3.1 Introduction

The small hive beetle (SHB), *Aethina tumida* Murray, is an indigenous pest of honey bees in South Africa (Lundie, 1940; Schmolke, 1974). It was first reported in the United States (Florida) in 1998 (Thomas, 1998) and is now an invasive species in the USA, Mexico, Australia and, more recently, Canada (Somerville, 2003; Dixon and Lafrenière, 2002; Giovenazzo and Boucher, 2010; Kozak, 2010). Adults enter hives or honey houses and reproduce. The larvae then inflict the most serious damage through their associated yeast, *Kodamaea ohmeri*, which induces honey fermentation (Torto *et al.*, 2007b). The bees may also abscond if SHB infestation becomes too extensive (Ellis *et al.*, 2003b).

Since the introduction of SHB in the USA and Australia, various traps have been subject to testing. In-hive traps slow SHB population growth (Ellis, 2005) and minimize damage to colonies by reducing the number of larvae produced. Trapping wandering larvae outside the hive breaks the reproductive cycle of SHB and thus reduces damage to colonies. Efficacy of traps is variable. Modified hive entrances and screened bottom boards are inefficient (Ellis *et al.*, 2003a; Hood and Miller, 2005; Ellis and Delaplane, 2006), while types including the Hood™ trap, jar-bottom board traps and modified bottom board traps have been shown to be efficient (Hood, 2006; Torto *et al.*, 2007a). Others seem to be effective but are marketed without any available scientific data (AJ's Beetle Eater™ (Cobey, 2008)). Moreover, no SHB traps have been tested in Canadian honey bee colonies.

SHB traps all follow the same design. Since small hive beetles (4.7 to 6.3 mm long x 3.1 to 3.5 mm wide (Lundie, 1940; de Guzman and Frake, 2007; Ellis *et al.*, 2002a)) are much smaller than honeybees (12 to 15 mm long), they are able to access traps through openings the bees cannot enter. Beetles also search shelter in dark places (Lundie, 1940). SHB die inside the traps through contact with a pesticide or by drowning in a liquid. Coumaphos is the main pesticide used against SHB in honey bee colonies (Checkmite+™ strip, Bayer Inc., 2010).

Baxter *et al.* (1999), Elzen *et al.* (1999) and Neumann and Hoffmann (2008) found mortality rates between 53 and 95% in field trials with in-hive coumaphos traps, and recommended its use for SHB control. Efficacy tests of drowning traps conducted by Hood and Miller (2003) showed that mineral oil and alcohol (95% ETOH) resulted in the highest SHB mortality (99%). They also showed that traps filled with apple cider vinegar caught many adult beetles, probably because vinegar acts as an attractant. Alcohol solutions evaporate quickly and do not attract SHB. Using food grade mineral oil and apple cider vinegar in drowning traps has been shown to effectively attract and kill adult SHB. Gillard (2008) recommended filling the middle compartment of the Hood™ trap with apple cider vinegar to attract the beetles, and the outer compartments with food grade mineral oil to kill them. Moreover, these natural substances can be used within an integrated pest management (IPM) approach

Lundie (1940) observed that SHB tend to congregate at the rear section of the bottom board as well as under the inner cover. Schmolke (1974) also observed SHB on the outside frames, where honey bee density is low. Torto *et al.* (2007a) found that there were more SHB captured in bottom board traps than in top traps, mostly when the number of SHB was high (Delaware and Pennsylvania, July and August 2004). Finally, Neumann and Hoffmann (2008) recommended using deadly traps on the bottom board to estimate the number of SHB in a hive. Higher numbers of adult beetles were captured near the entrance of the hive. They also recommended placing more traps elsewhere in the colony (e.g. side walls, outer comb and top frames), because they only found $43 \pm 27\%$ of the total SHB in traps located on the bottom board.

The aim of this study was to determine the effectiveness of various traps for both SHB adults and wandering larvae in Canadian honey bee colonies.

3.2 Materials and Methods

3.2.1 Study sites

The first field trial took place from May 24th to June 28th, 2011, in West-Montérégie (municipality of Dundee, southern Québec). Experimental colonies were placed in two bee yards that had been infested with SHB the previous year (Giovenazzo and Boucher, 2010). They were located 6.7 km apart. Location of the colonies, number of colonies on each site and distance from the US border are provided in Table 8.

Infested colonies were placed on wooden pallets (two to four colonies per pallet), approximately 2 metres apart in each bee yard. Colonies consisted of one brood chamber and one honey super separated by a queen excluder. Colonies were checked weekly and queen cells were destroyed. No supers were added or withdrawn during the experiment. The colonies were destroyed a few days after the end of the experiment in order to limit SHB invasion.

The second field trial took place from August 8th to October 5th, 2011, in Essex County, southern Ontario. Experimental colonies were situated in two bee yards that had been infested with SHB the previous year (Kozak, 2010). Bee yard location and number of colonies are shown in Table 9.

Each SHB infested colony was placed on a wooden base and grouped by two or four colonies. These groups were randomly dispersed in the bee yard. Colonies consisted of one brood chamber and two to four honey supers, separated by a queen excluder. Colonies belonged to a beekeeper in the area and were managed according to his regular practice. Whenever honey supers were added or removed, traps were repositioned.

3.2.2 Small hive beetle traps

Four different deadly traps were tested. Three were placed inside the colony to catch adult beetles: AJ's Beetle Eater™ (AJ's Beetle Eater), Beetle Barn™ (Rossmann Apiaries) and Hood™ trap (Rocky Mountain Bee Farm), all ordered through F.W. Jones & Son Ltd. (Bedford, Québec). Another type, Teal™ trap, was placed outside the colony to catch wandering larvae. Below is a brief description of each trap:

AJ's Beetle Eater™: This rectangular plastic trap (20.0 cm long x 1.1 cm wide x 2.0 cm deep) was designed by Tom Kennedy, an Australian beekeeper (Cobey, 2008). It can hold up to 30 mL of food grade mineral oil. The comb-shaped lid has several 0.3 cm openings that allow adults SHB to enter the trap and eventually drown in oil (Fig. 7A). This trap is placed on top of the brood chamber or honey super, in between the first and second frames (Cobey, 2008) (Fig. 7B).

Beetle Barn™: This flat rectangular trap is made of black plastic (9 cm long x 7.5 cm wide x 0.7 cm deep, Fig. 8). It has small openings on each side (1.3 cm x 0.3 cm) that allow adult SHB to enter, but are too small for honey bees to pass through. A square piece (2 cm²) of CHECK MITE+™ strip (Coumaphos 10% - Bayer Health Care Animal Health Canada) is placed in the middle section of the trap. Adult SHB tend to hide from the bees by entering the trap, and die upon contact with the insecticide strip. The Beetle Barn™ is placed on the floor of the hive or on top, just over the frames.

Hood™ trap: This trap was developed by Dr. Mike Hood at Clemson University in South Carolina (Hood, 2006). It consists of transparent plastic container (15 cm long x 2.5 cm wide x 8 cm deep, Fig. 9A) divided into three compartments (Fig. 9B) that can hold up to 210 mL of food grade mineral oil or apple cider vinegar. The lid has a 12.8 x 0.3 cm opening (Fig. 9A) that allows adult SHB to enter, but not honey bees. The Hood™ trap is fixed on the bottom part of an empty wood frame

(Fig. 9A) and placed next to the wall of a brood chamber or honey super, at position 1 or 10.

Teal™ trap : This is a transparent plastic container that must be placed at the hive entrance (Fig. 10). Wandering larvae fall into the trap, which is filled with food grade mineral oil (Vetoquinol), and die from asphyxiation.

3.2.3 Effect of traps on brood population, honey yield and SHB population in West-Montérégie bee colonies

In the West-Montérégie field trial, impact of traps on honey bee population was evaluated by comparing initial (May 23rd, 2011) and final (June 27th, 2011) numbers of immature bees in each colony. The number of immature bees was estimated by measuring the brood area, as described in Giovenazzo and Dubreuil (2011). After initial colony evaluation, colonies of similar strength were divided into two groups: 1) without traps (control) and 2) with traps. Every week, colonies were weighed (in kg) and SHB in traps were counted and removed. SHB were detected in hives according to the methodology described by Neumann and Hoffmann (2008). The lid, inner cover, bottom board, top of frames, each frame and side walls of each hive were carefully inspected. Although we attempted to estimate SHB population in the Essex County field trial, there were too many individuals and they were difficult to count with the method previously described. Most of the beetles we observed were on the top super at the time of observation.

3.2.4 In-hive trap positioning

For each experiment, all the traps selected for each field trial were placed inside the group of hives designated “with traps”. In West-Montérégie, selected traps and killing agents were: 1) AJ’s Beetle Eater™ with mineral oil, 2) Beetle Barn™ and coumaphos 10% and 3) Hood™ trap with mineral oil, and, in Essex County: 1) AJ’s Beetle Eater™ with mineral oil, 2) Beetle Barn™ and coumaphos

10%, 3) Hood™ trap with mineral oil, 4) Hood™ trap with mineral oil and apple cider vinegar and 5) Teal™ trap with mineral oil (Table 2). In West-Montérégie, traps were placed in the brood chamber and in Essex County, they were placed on top of the honey super. Traps were positioned to avoid any interaction between them. The AJ's Beetle Eater™ and Hood™ trap were placed either on the left (L) or on the right side (R) of the honey super, but never on the same side. The Beetle Barn™ was placed either at the front (F, 20 cm behind the hive entrance) or rear (Re, 1 cm away from the back of the bottom board). In the Essex County field trial, the Beetle Barn™ was placed on top of the last honey super, just underneath the lid. The four placement possibilities (Table 10) were randomly distributed among the group "with traps". In Essex County, there were eight possible combinations, because the Hood™ trap was filled either with mineral oil or with mineral oil and apple cider vinegar. The Teal™ trap was placed at the entrance of each hive in Essex County.

Traps were inspected every week and SHB were counted and removed. The two last inspections were performed at a two-week interval in Essex County. When necessary, the piece of coumaphos was replaced, and fresh mineral oil and apple cider vinegar were added. A summary of all measured variables for each experiment is provided in Table 11.

3.2.5 Statistical analysis

The experimental design was a generalized randomized block design with repeated measures. Statistical analysis was performed with SAS software (SAS Institute 2000, Version 9.2) using proc MIXED. The number of adult SHB captured per trap and the initial and final number of SHB in colonies were transformed (square-root) to reach normality. A two-way ANCOVA (site and traps) was used to analyse the final number of adult SHB and immature bees. In both cases, the initial number was corrected due to variation in data. An ANCOVA with repeated measures was used to calculate trap efficacy.

3.3 Results

3.3.1 West-Montérégie trial

3.3.1.1 *Effect of various traps on bee colonies and honey yield*

There was no significant effect of traps on the honey bee brood population. ($F = 0.37$; $df = 1,14$; $P = 0.5524$). On June 27th, 2011, colonies without traps had 6189 ± 2751 immature bees (mean \pm SE) and colonies with traps had 8345 ± 2232 immature bees (mean \pm SE). There was no significant effect of traps on colony honey yield ($F = 0.01$; $df = 1,52$; $P = 0.9091$). On June 27th, 2011, colonies without traps weighed 43 ± 3 kg (mean \pm SE) and colonies with traps weighed 42 ± 2 kg.

3.3.1.2 *Effect of traps on SHB population*

Traps significantly reduced the SHB population in honey bee colonies ($F = 11.86$; $df = 1,14$; $P = 0.0040$) during the trials. On May 24th, 2011, the initial average of adult SHB was 11 per colony (ranging from 0 to 88 adult SHB per colony). On June 27th, 2011, the final average number of adult SHB was 4 for colonies without traps and 0.3 for colonies with traps (Table 12). This represent a reduction of 91.8% compared to colonies without traps.

3.3.1.3 *Trap efficacy*

The interaction between traps and time was marginally significant ($F = 1.87$; $df = 8,139$; $P = 0.0691$). However, on May 30th, 2011, at the first trap sampling, the Beetle Barn™ caught significantly more adult SHB than the Hood™ trap and the AJ's Beetle Eater™ ($F = 4.72$; $df = 2,139$; $P = 0.0104$) (Fig. 11). Variance of captured SHB was high every week (from 0.24 to 0.80).

3.3.1.4 Effect of positioning of traps in colonies

The positioning of traps in colonies, i.e. left or right for the AJ's Beetle Eater™ and the Hood™ trap and front or rear for Beetle Barn™, had no influence on the number of SHB caught ($F = 0.90$; $df = 3,109$; $P = 0.4456$).

3.3.2 Essex county trial

3.3.2.1 Hood™ trap: mineral oil vs mineral oil and apple cider vinegar

The use of mineral oil with or without apple cider vinegar had no significant effect on the number of SHB captured in the Hood™ traps ($F = 0.01$; $df = 1,2$; $P = 0.9476$). Traps with mineral oil captured an average of 1.4 adult SHB per week, while an average of 1.5 adult SHB per week was captured in traps filled with mineral oil and apple cider vinegar (Table 13).

3.3.2.2 Trap efficacy

The interaction between traps and time was significant ($F = 4.81$; $df = 10,798$; $P < 0.0001$, Fig. 12). There was no correlation between the number of wandering larvae caught in the Teal™ trap and the number of adult SHB captured inside the colony ($F = 1.61$; $df = 5,214$; $P = 0.1583$). Honeybees tend to seal the openings of the trap Beetle Barn™ with propolis, which reduces its effectiveness if it is not cleaned regularly. The interaction between the number of sealed holes and time was significant ($F = 2.82$; $df = 5,229$; $P = 0.0173$), especially for week 1 ($P < 0.0001$) and week 2 ($P = 0.0158$). Fewer SHB were captured in the Beetle Barn™ trap when holes were sealed (Fig. 13).

3.4 Discussion

In the spring, the use of in-hive deadly traps effectively reduced the beetle population in the West-Montérégie trial. Hood (2006) reached the same conclusion with Hood™ traps and jar-bottom board traps. In control colonies (no traps, West-Montérégie), the final number of adult SHB was lower than the initial number. We hypothesize that this is a result of SHB movement within colonies, and that many individuals left a trap-free colony only to be caught in colonies that had traps. Adult SHB are active flyers and are known to frequently move from one colony to another (Ellis, 2005).

In Essex County, we did not count the initial and final number of SHB. SHB are not easily visible in July and August in strong colonies with two brood boxes and two honey supers. They move quickly (Schmolke, 1974) and hide from light. There is therefore an important bias when trying to count them. There was also a risk of SHB reintroduction because of the high infestation rates in nearby apiaries. In Canada, SHB invasion is recent and there are no reports yet on the seasonal dynamic of SHB. Moreover, location of adult beetles in colonies has never been examined in relation to the moment of the season and the amount of food available in the colony. These parameters merit verification in the future.

In this study, we assessed trap efficacy when they were all placed in the same colony. This protocol allowed us to remove the effect of differences between colonies. It would be interesting to compare trap efficacy using a single kind of trap per colony. However, this would require a high number of replicates to reduce the effect of variation between colonies. In the West-Montérégie trial, there were significant differences between traps on May 30th 2011, one week after positioning traps in colonies. This could be the result of the low adult beetle population in colonies. Ellis (2005) and Torto *et al.* (2007a) suggested that sampling devices or traps for SHB might be less efficient when a beetle population is small. This seems

to be confirmed in our Essex County, trial where SHB populations were larger than in the West-Montérégie trial and where we measured significant differences every week. Our traps could have been made more effective by adding an attractant, such as pollen dough inoculated with the yeast *Kodamaea ohmeri*, as suggested by Arbogast *et al.* (2007). This procedure warrants testing in a future experiment.

Traps had no effect on brood population or honey yield in the West-Montérégie trial. Adult SHB densities were low, and they may not have been high enough to cause damage to the colonies. Moreover, colonies were strong and quite aggressive, and thus seemingly able to control the beetles. No SHB larvae were observed during this trial.

The Teal™ trap was an effective method for capturing wandering larvae (Arbogast *et al.*, 2012), even if it cannot be used to predict beetle infestation. In the Essex County study, only a few larvae were caught in Teal™ traps (0 to 12 larvae), except for in one colony, where we found up to 3920 wandering larvae. This colony was defective, with laying workers and no queen.

There are obviously both advantages and disadvantages associated with the traps we tested. All traps are easily obtainable and relatively low cost (Hood, 2006; Gillard, 2008; Hood and Miller, 2003; Cobey, 2008). They can be placed anywhere in the colony and the positioning of traps within one super does not influence the number of beetles captured, as we demonstrated in this study. This simplifies the work of the beekeeper, who does not have to consider trap placement in the colony. However, further studies should be conducted to determine the most effective in-hive trap position in relation to the moment in the beekeeping season, because SHB position in the colony may vary over the course of the time. Bees also tend to propolise or deposit wax in the small openings of in-hive traps (Gillard, 2008; Hood, 2006). For example, Hood and Miller (2003) found

that 30% of trap openings were sealed with propolis, especially when there was apple cider vinegar inside. According to Cobey (2008), this limitation can be avoided with the AJ's Beetle Eater™ by placing a mat over the trap. Another option is to regularly clean the traps. The use of AJ's Beetle Eater™ requires opening the hive. This is time-consuming, and therefore constitutes a disadvantage of using this type of trap. The container is also small and the liquid used in the trap is subject to evaporation. Moreover, we found the device difficult to manipulate because of its small size and the way the lid is clipped on the container. We found the Beetle Barn™ to be the most convenient trap and the position of this trap did not have an effect on the number of captured. The Beetle Barn™ can easily be inserted in the hive through the bottom board entrance with a standard hive tool. Moreover, a wire can be slipped through the two side openings of the trap to form a large loop that hangs outside the hive. The trap can be then withdrawn by pulling the wire at the same time it is lifted off the floor with the hive tool. Hive opening is not required for inspection, which is a great time-saver. However, this trap must be cleaned frequently, because bees tend to seal the openings with propolis. As shown in this study, the trap is less effective when more than two openings are sealed. The SHB could also develop resistance to coumaphos, as have varroa mites, another bee pest (Sammataro *et al.*, 2005). Moreover, we do not know whether use of this trap could lead to an accumulation of coumaphos residue in honey. Kanga and Somorin (2012) showed that chlorpyrifos ($LC_{50}=0.53 \mu\text{g}/\text{vial}$), fenitrothion ($LC_{50}=0.53$) and parathion ($LC_{50}=0.68$) were more effective in killing adult SHB than coumaphos ($LC_{50}=1.61$). However, all belong to the chemical family organophosphates, like coumaphos, which can increase risk of pests developing resistance. Risks for honey bees and human consumption have yet to be assessed.

Unlike Hood and Miller (2003), we did not find differences between the utilization of mineral oil and mineral oil and apple cider vinegar in Hood™ traps. Beekeepers could effectively use either in their colonies. This trap does not require opening the hive as does the AJ's Beetle Eater™. Mineral oil or apple cider vinegar

must be replaced occasionally (Gillard, 2008). Bees may fill the container with wax particles (Gillard, 2008). A major disadvantage of the Hood™ trap is that it uses frame space. Consequently, honey bees can store less honey and pollen, which could lead to a lack of food in dearth periods. Bees also tend to build drone cells in this empty frame, which can increase the number of varroa mites if it is not managed properly (Hood, 2006).

In conclusion, the use of in-hive traps to capture and kill adult SHB in honeybee colonies is an effective way to reduce infestation levels. The use of deadly traps can also be combined with good management practices such as to keep colonies strong and healthy, as well as selection of resistant bee stock for breeding (Ellis, 2005). Further research should be conducted on trap efficacy and trap impact on colonies when used at different times during the season.

Acknowledgements

We would like to thank Les Eccles and the Technology Transfer Team of the Ontario Beekeepers' Association for data collection in Essex County : Melanie Kempers, Raquel Mijares González, Natalie Talbot, Corey Ferguson and Alex Maranduik. Our thanks to all beekeepers from Miellerie Saint-Stanislas, Québec, and Sun Parlor Honey, Ontario, for taking care of the colonies during the trials. Thanks to Andrée Rousseau for being such a helpful assistant. We are grateful to Gaétan Daigle, department of Statistics, Université Laval, for his help with data analysis. This research was funded by the Quebec Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ) and NSERC-CANPOLIN.

Table 8 Site information for the West-Montérégie trial (Quebec)

| Site name | Amhurst | Andrew |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Site location | N 45.003983 W 74.449317 | N 45.000783 W 74.362683 |
| Total number of colonies | 11 | 8 |
| Number of colonies without traps | 8 | 4 |
| Number of colonies with traps | 3 | 4 |
| Distance from US border | 770 m | 805 m |

Table 9 Site information for the Essex County trial (Ontario)

| Site name | Sheply | Garnet | Smith |
|--------------------|---------------|---------------|--------------|
| Site location | N 42.120819 | N 42.114615 | N 42.105379 |
| | W 82.839746 | W 82.868688 | W 82.946616 |
| Number of colonies | 13 | 17 | 18 |

Table 10 Trap position possibilities for the AJ's Beetle Eater™, Beetle Barn™ and Hood™ trap in the West-Montérégie field trial. (L=left, R=Right, F=front, Re=Rear).

| Possibility/Trap | AJ's Beetle Eater™ | Beetle Barn™ | Hood™ trap |
|-------------------------|---------------------------|---------------------|-------------------|
| I | R | F | L |
| II | R | Re | L |
| III | L | F | R |
| IV | L | Re | R |

Table 11 Measured variables in West-Montérégie (Quebec) and Essex County (Ontario).

| Variables | Montérégie-Ouest (Qc) | Essex County (Ont) |
|--|--|--|
| Trap location | Lower brood chamber | Top honey super |
| Traps | AJ's Beetle Eater™ | Mineral oil |
| | Beetle Barn™ | Coumaphos 10% |
| | Hood™ trap | Mineral oil vs mineral oil + apple cider vinegar |
| | Teal™ trap | no |
| | Effect of traps on initial and final SHB population | yes |
| Effect of traps on immature honeybee population | yes | no |
| Effect of traps on honey yield | yes | no |

Table 12 Final number of SHB in bee colonies for West-Montérégie trial on June 27th, 2011.

| Group | N | Least square means | Standard Error |
|-------------------------|----------|---------------------------|-----------------------|
| Control (without traps) | 7 | 1.95 | 0.30 |
| With traps | 12 | 0.55 | 0.25 |

Table 13 Number of SHB captured in Hood™ trap: mineral oil vs mineral oil + apple cider vinegar. Essex County trial, from August 8th to October 5th, 2011.

| Liquid | N of colonies | Least square means | Standard Error |
|-----------------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------|
| Mineral oil | 23 | 1.19 | 0.24 |
| Mineral oil + apple cider vinegar | 25 | 1.21 | 0.24 |

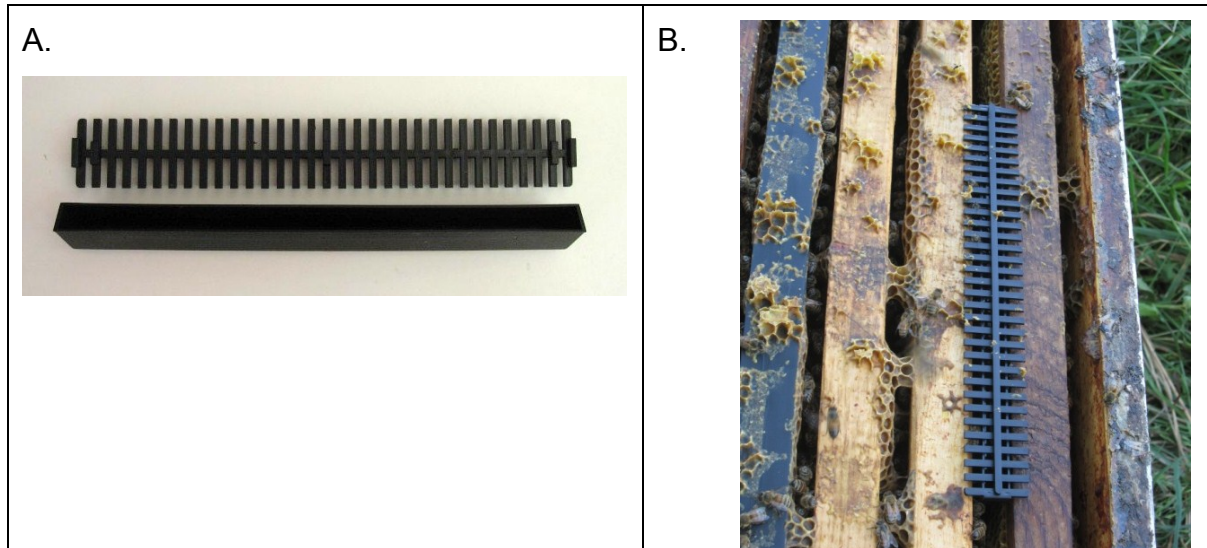


Figure 7 AJ's Beetle Eater™ trap (AJ's Beetle Eater) A. Container and lid apart. B. Trap placed in a brood chamber, on top of the first and second frames. Photo credits: Martine Bernier.

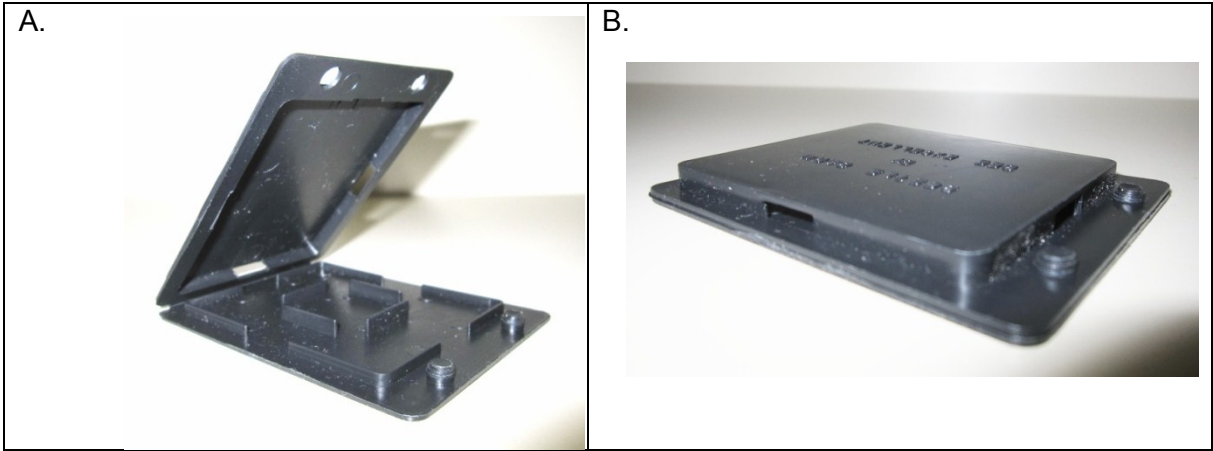


Figure 8 Beetle Barn™ (Rossmann Apiaries). A. Open. B. Closed. Photo credits: Martine Bernier.

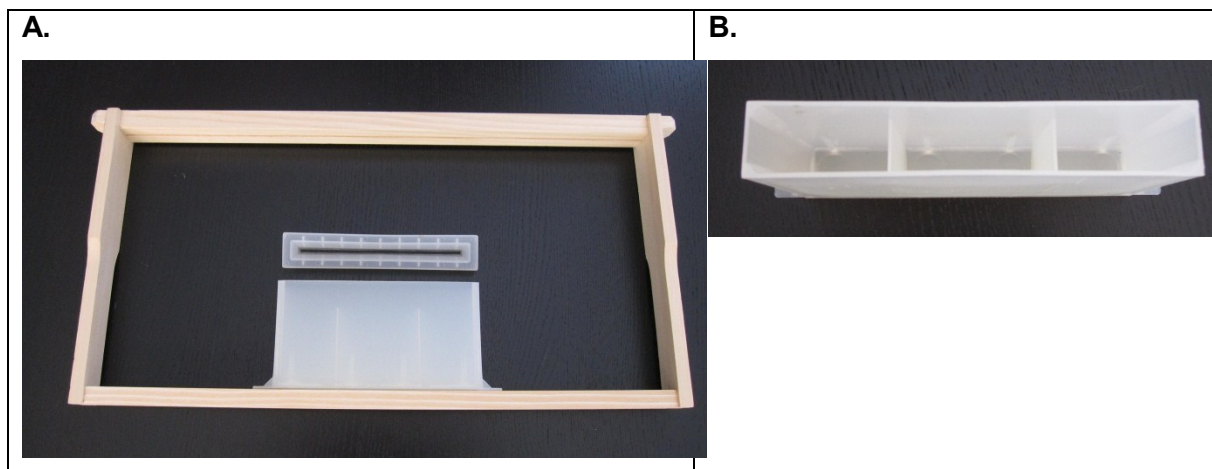


Figure 9 Hood™ trap (Rocky Mountain Bee Farm). A. Trap placed in an empty frame, showing container and lid. B. Inside the trap are three compartments. Photo credits: Martine Bernier.



Figure 10 Teal™ trap placed at the entrance of the hive. Photo credits: Martine Bernier.

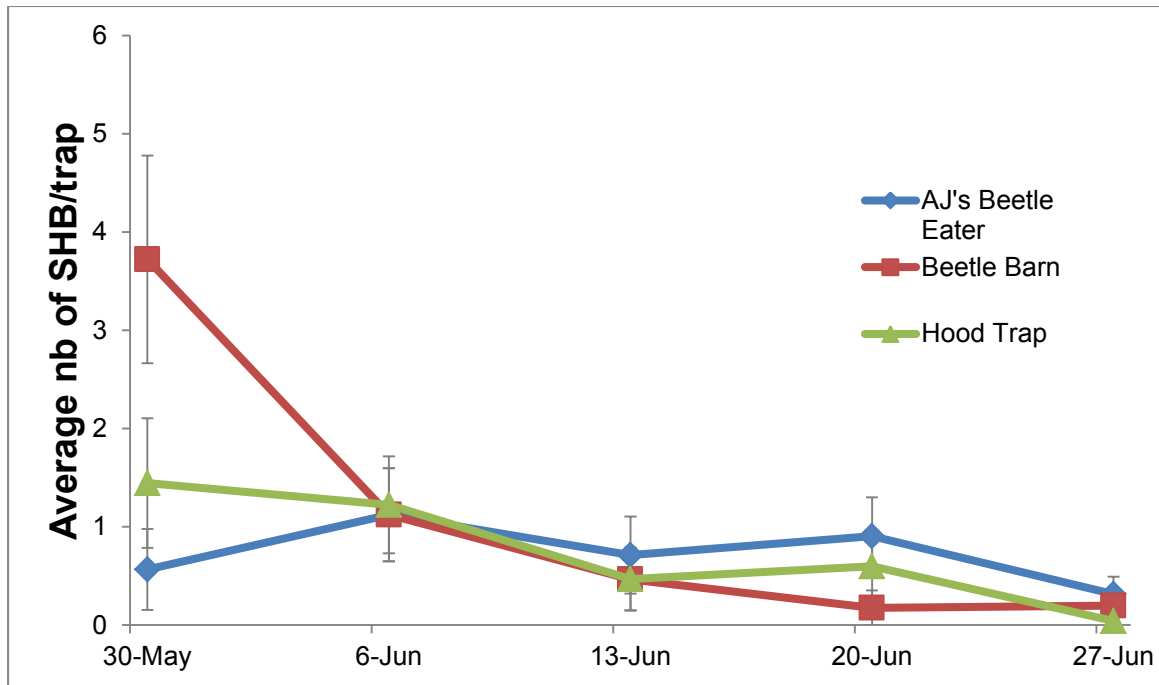


Figure 11 Average number (\pm SE) of adult SHB caught in traps according to the type of trap, from May 30th to June 27th, 2011, in Montérégie-Ouest.

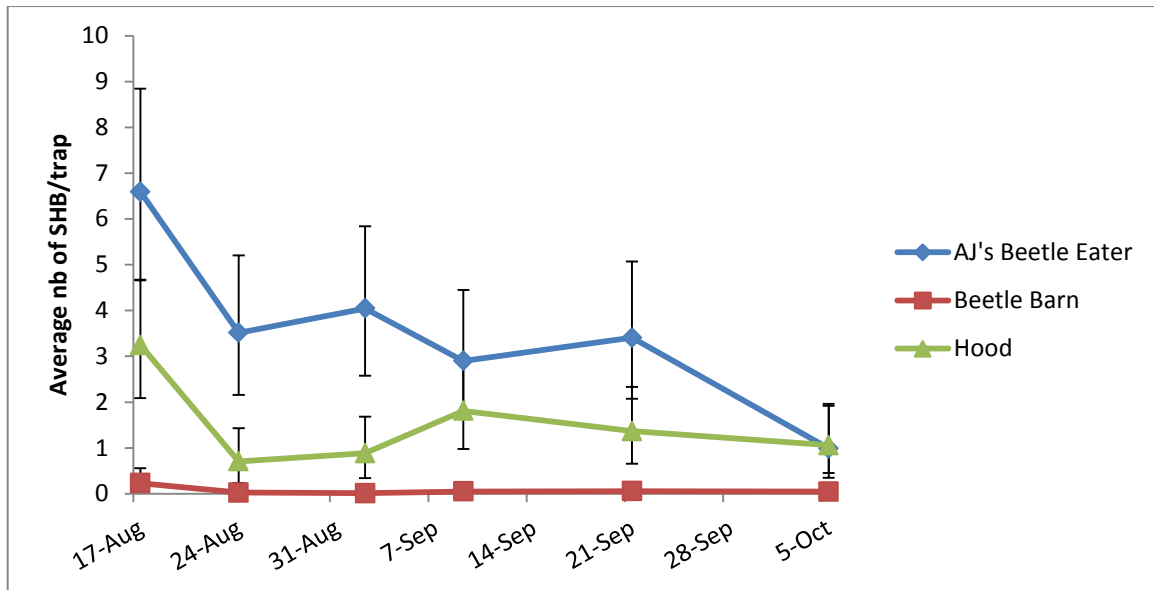


Figure 12. Average number (\pm SE) of adult SHB captured per trap, from August 17th to October 5th, 2011, in Essex County.

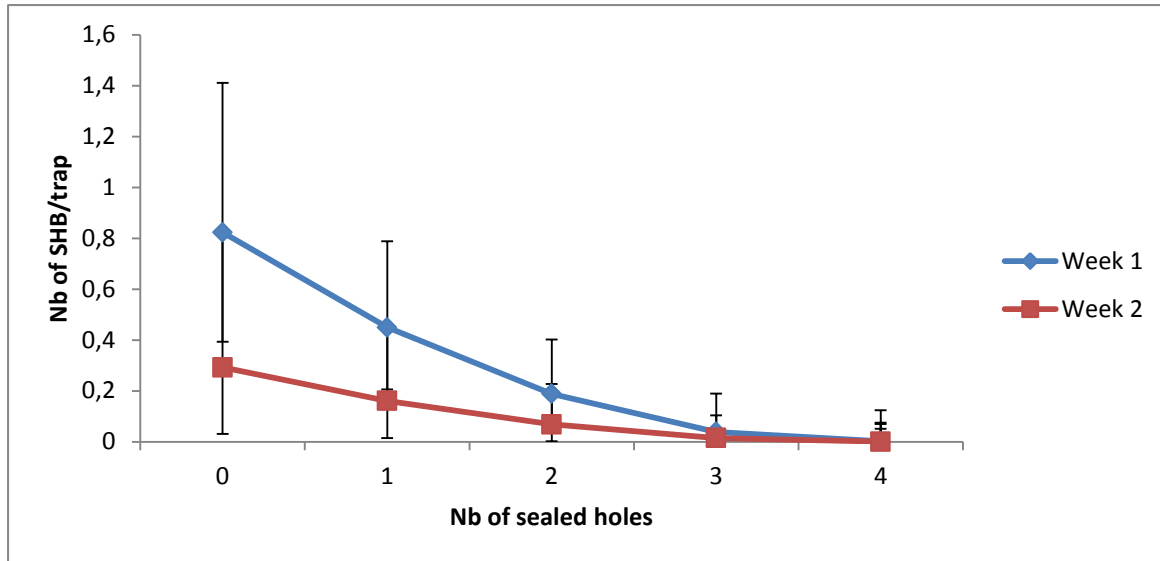


Figure 13. Average number (\pm SE) of adult SHB captured by the Beetle Barn™ during week 1 and 2 in Essex County, Ontario.

Chapitre IV : Conclusion générale

Ce projet de recherche était divisé en deux parties. Tout d'abord, une première partie où l'objectif était de mieux connaître l'influence des facteurs édaphiques sur le développement de la pupe du petit coléoptère de la ruche (CR), *Aethina tumida*. Ensuite, une seconde partie dans laquelle l'efficacité de plusieurs pièges mortels était testée.

Pour la première partie, l'hypothèse selon laquelle le temps de développement de la pupe était inversement proportionnel à la température du sol a été confirmée. À 20°C, le temps de développement était en moyenne 38 jours tandis qu'il était de 73 jours à 16°C. Ce temps de développement, qui diminue à mesure que la température augmente, est typique chez les insectes (Samara *et al.*, 2011). Cependant, le temps de développement était aussi fonction de la teneur en eau du sol, ce qui n'avait pas été spécifié dans les hypothèses. Dans les sols secs, le temps de développement augmente significativement de quelques jours par rapport à un sol plus humide. La connaissance du temps de développement de la pupe à des températures caractéristiques des sols du Québec a permis d'estimer avec plus de précision le potentiel de génération de cet insecte ravageur. En additionnant les valeurs précédentes avec le temps requis à l'œuf pour éclore, à la larve pour atteindre la phase migrante et celui pris par l'adulte pour atteindre la maturité sexuelle, nous obtenons un potentiel de deux générations par année au sud du Québec. Dans cette région, la température est légèrement plus élevée que dans des régions plus au nord. Il n'est cependant pas exclu que l'augmentation de la durée de la saison estivale causée par le réchauffement climatique permette à cet insecte d'effectuer une génération de plus. Celui-ci pourrait également s'adapter aux conditions plus froides qui prévalent dans certaines régions du Québec et ainsi devenir un ravageur plus important.

La seconde hypothèse de la première partie stipulait que la diminution du contenu en eau du sol allait également diminuer le taux de survie de la pupe. Cette

hypothèse a été réfutée. Le sol sec n'était pas du tout un facteur limitant au développement de la pupa. Les facteurs limitants sont le contenu en eau élevé du sol et les températures froides, particulièrement inférieures à 16°C. Le sol presque à saturation a probablement permis un développement plus important de certains champignons, qui ont causé la mort des pupes de CR. De plus, les températures testées ont permis d'obtenir de nouvelles informations concernant la biologie du CR, puisque celles-ci, à notre connaissance, n'avaient pas été étudiées auparavant. Nous sommes maintenant en mesure d'affirmer que 16°C se rapproche de la température limite inférieure nécessaire au développement de la pupa. Nous estimons cette température limite à 13°C, plutôt qu'à 10°C, comme certains auteurs l'avaient précédemment estimé (Pettis, 2010; Meikle and Patt, 2011). Cette estimation de 13°C a été obtenue par extrapolation des courbes obtenues lors de l'étude, mais aussi à la suite de l'expérimentation préliminaire, qui a révélé un développement nul à une température de 12°C. Enfin, ces connaissances par rapport aux conditions limitantes au développement de la pupa vont permettre une gestion plus éclairée des méthodes de lutte la ciblant. En effet, la présence potentielle de pupes dans le sol oblige les apiculteurs à appliquer un insecticide au sol, la perméthrine, pour l'éliminer, étant donné que le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec vise l'élimination de ce ravageur sur son territoire. La plupart du temps, les apiculteurs ne peuvent pas appliquer cet insecticide eux-mêmes, car ils ne possèdent pas la certification requise. De plus, la perméthrine est toxique pour les abeilles, les poissons et les invertébrés aquatiques (Bayer CropScience, 2010). Il ne sera donc pas nécessaire de requérir à l'utilisation de ce pesticide lorsque les températures du sol sont inférieures à 18°C.

La troisième hypothèse spécifique énonçant que le sexe ratio des adultes émergents était influencé par la température a été réfutée. En effet, les résultats ont démontré que ce n'est pas la température qui a une telle influence, mais le

contenu en eau du sol. Les CR mâles étaient défavorisés lorsque le contenu en eau du sol était élevé.

Enfin, la quatrième hypothèse selon laquelle la température influence la survie des adultes émergents a été réfutée. Encore une fois, c'est principalement l'humidité du sol qui a eu cette influence, et non la température. Dans un sol très humide, la durée de vie des adultes émergents était diminuée de moitié comparativement à ceux qui ont complété leur transformation dans un sol sec ou intermédiaire. Cependant, il est possible que ce soit les conditions dans lesquelles les adultes ont été élevés après leur émergence qui aient biaisé ce résultat, principalement pour ce qui est du premier bloc de répétitions. En effet, certains d'entre eux mourraient noyés dans le liquide présent dans le fond de l'éprouvette. De plus, des champignons se développaient aussi parfois dans les tubes, probablement en raison de spores possiblement présents dans les grains de pollen qui leur étaient donnés pour s'alimenter. Enfin, certains adultes mourraient aussi par asphyxie lorsque les larves présentes colmataient les ouvertures dans le couvercle du tube avec leurs excréments.

Pour la seconde partie de notre projet de recherche, la première hypothèse stipulant que les pièges permettaient une diminution de la population de CR adultes dans les colonies d'abeilles domestiques a été confirmée. Une baisse générale de CR a été observée dans les colonies expérimentales. De plus, les pièges présents dans les colonies ont permis une baisse de 91,8% par rapport aux colonies sans pièges. Cela indique que les pièges permettent de contrôler cet insecte. Il aurait cependant été utile de continuer l'étude pendant quelques semaines pour vérifier si ceux-ci pouvaient éliminer complètement les CR des colonies. En Ontario, l'expérimentation s'est déroulée sur une période de temps plus longue, mais les risques de réintroduction de coléoptères des colonies voisines n'aurait pas permis d'en arriver avec un résultat concluant. Cette situation

n'était pas présente en Montérégie-Ouest, puisque les colonies utilisées étaient les seules à être infestées dans la région à ce moment de la saison.

La seconde hypothèse énonçant que le Beetle Barn™ était le piège le plus efficace a été partiellement confirmée. En effet, en Montérégie-Ouest, celui-ci a été le plus efficace, mais seulement lors du premier échantillonnage des pièges, au 30 mai 2011, lorsque le nombre de coléoptères était le plus élevé. La différence entre les pièges n'était pas significative après cette date. En Ontario, c'est plutôt le AJ's Beetle Eater™ qui a été le plus efficace, le Beetle Barn™ se plaçant au dernier rang. Cependant, les pièges n'ont pas été placés au même endroit dans la colonie pour ces deux expérimentations. En Montérégie-Ouest, les pièges étaient placés dans la boîte à couvain inférieure, tandis qu'ils étaient placés dans la hausse à miel supérieure dans le comté d'Essex. De plus, le moment dans la saison ainsi que l'emplacement des coléoptères dans les colonies étaient différents. Il serait donc intéressant de reproduire cette expérience pour la durée totale de la saison et avec des pièges à la fois dans la partie inférieure et la partie supérieure de la colonie. Cela permettrait, par la même occasion, de recueillir des données sur les mouvements des adultes CR dans la colonie en fonction du moment dans la saison, de la population d'abeilles et de la récolte de miel et de pollen.

La troisième hypothèse selon laquelle les pièges n'affectaient pas la productivité de la colonie a été confirmée. En effet, la présence de pièges ne diminue ni la population d'abeilles immatures ni la récolte en miel. Cependant, la gestion des colonies utilisées en Montérégie-Ouest pour cette expérimentation n'était pas optimale. En effet, les colonies étaient continuellement en période d'essaimage et aucune hausse supplémentaire n'a été ajoutée pour augmenter la récolte de miel. L'apiculteur propriétaire des colonies ne désirait pas perdre de matériel, étant donné que les colonies allaient être détruites à la fin du mois de juin

2011, à la fin du projet. Les colonies utilisées étaient donc très fortes, après une reprise rapide au printemps. Il serait donc intéressant de vérifier l'impact des pièges dans des colonies gérées de façon conventionnelle. De plus, le nombre de CR adultes n'était pas très élevé dans ces colonies, si on compare avec celles de l'Ontario ou encore, avec celles des États-Unis. La population de CR n'était peut-être pas assez importante pour causer des dommages aux colonies québécoises et les abeilles étaient assez populeuses pour contrôler les envahisseurs.

Enfin, la quatrième hypothèse stipulant que le piège Teal™ placé à l'entrée de la colonie pouvait prédire le niveau d'infestation de celle-ci a été réfutée. Le nombre de larves capturées à l'entrée de la colonie n'était pas du tout corrélé avec le nombre de coléoptères adultes capturés dans les pièges de la colonie. Seules quelques colonies ont permis le développement d'un grand nombre de larves. Les reines de ces colonies étaient défectueuses ou absentes. Les reines des autres colonies étaient fonctionnelles. Cela démontre cependant l'importance de garder des colonies fortes et en bonne santé afin de diminuer l'impact des CR sur celles-ci.

En conclusion, cette étude a tout d'abord permis de mieux connaître le développement pupal d'*Aethina tumida* dans des conditions édaphiques retrouvées dans un climat tempéré comme celui du Canada. Il a également permis de quantifier l'efficacité de certains pièges mortels commercialisés pour la capture du petit coléoptère de la ruche. Ces données seront utiles pour les apiculteurs québécois et canadiens quant à la lutte de ce nouvel insecte ravageur des colonies d'abeilles mellifères.

Bibliographie

- Arbogast, R. T., B. Torto and P. E. A. Teal (2009a). Monitoring the small hive beetle *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) with baited flight traps: effect of distance from bee hives and shade on the numbers of beetles captured. *Florida Entomologist* 92(1): 165-166.
- Arbogast, R. T., B. Torto, D. Van Engelsdorp and P. E. A. Teal (2007). An effective trap and bait combination for monitoring the small hive beetle, *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae). *Florida Entomologist* 90(2): 404-406.
- Arbogast, R. T., B. Torto, S. Willms, A. T. Fombong, A. Duehl and P. E. Teal (2012). Estimating reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) in honey bee colonies by trapping emigrating larvae. *Environmental Entomology* 41(1): 152-158.
- Arbogast, R. T., B. Torto, S. Willms and P. E. A. Teal (2009b). Trophic habits of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae): their adaptive significance and relevance to dispersal. *Environmental Entomology* 38(3): 561-568.
- Baxter, J. R., P. J. Elzen, D. Westervelt, D. Causey, C. Randall, F. A. Eischen and W. T. Wilson (1999). Control of the small hive beetle, *Aethina tumida* in package bees. *American Bee Journal* 139(10): 792-793.
- Bayer CropScience. (2010). Fiche signalétique Permanone multi-purpose 10% E.C.: Bayer CropScience Inc.
- Bayer Inc. (2010). CheckMite+ Label.
- Blossey, B., D. Eberts, E. Morrison and T. R. Hunt (2000). Mass rearing the weevil *Hylobius transversovittatus* (Coleoptera: Curculionidae), biological control agent of *Lythrum salicaria*, on semiartificial diet. *Journal of Economic Entomology* 93(6): 1644-1656.
- Buckman, H. O. and N. C. Brady (1960). The soil in perspective. In *The nature and properties of soils*, 567 pp. (Ed T. M. Company). New York.
- Canadian Food Inspection Agency. (2011). Small hive beetle in honeybee queen shipments from Hawaii. *Hivelights* 24(3): 30.
- Cobey, S. (2008). "AJs Beetle Eater" a simple, non-chemical, in hive, small hive beetle trap. *American Bee Journal* 148(1): 43-44.
- de Guzman, L. I. and A. M. Frake (2007). Temperature affects *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae) development. *Journal of Apicultural Research* 46(2): 88-93.
- de Guzman, L. I., J. A. Prudente, T. E. Rinderer, A. M. Frake and H. Tubbs (2009). Population of small hive beetles (*Aethina tumida* Murray) in two apiaries having different soil textures in Mississippi. *Science of Bee Culture* 1(1): 4-8.
- Dixon, D. and R. Lafrenière (2002). Small hive beetle in Manitoba. *Hivelights* 15(4): 29.
- Eddy, C. O. and W. C. Nettles (1930). The bean leaf beetle. *South Carolina Agricultural Experiment Station Bulletin*: 25.
- Ellis, J. D. (2005). Progress towards controlling small hive beetles with IPM: Integrating Current Treatments - Part II of two parts. *American Bee Journal* 145(3): 207-210.

- Ellis, J. D. and K. S. Delaplane (2006). The effects of habitat type, ApilifeVar (TM), and screened bottom boards on small hive beetle (*Aethina tumida*) entry into honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *American Bee Journal* 146(6): 537-539.
- Ellis, J. D., K. S. Delaplane, R. Hepburn and P. J. Elzen (2003a). Efficacy of modified hive entrances and a bottom screen device for controlling *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae) infestations in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology* 96(6): 1647-1652.
- Ellis, J. D., K. S. Delaplane and W. M. Hood (2002a). Small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) weight, gross biometry, and sex proportion at three locations in the southeastern United States. *American Bee Journal* 142(7): 520-522.
- Ellis, J. D., R. Hepburn, K. S. Delaplane, P. Neumann and P. J. Elzen (2003b). The effects of adult small hive beetles, *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae), on nests and flight activity of Cape and European honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie* 34(4): 399-408.
- Ellis, J. D., R. Hepburn, B. Luckman and P. J. Elzen (2004). Effects of soil type, moisture, and density on pupation success of *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae). *Environmental Entomology* 33(4): 794-798.
- Ellis, J. D., P. Neumann, R. Hepburn and P. J. Elzen (2002b). Longevity and reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae) fed different natural diets. *Journal of Economic Entomology* 95(5): 902-907.
- Elzen, P. J., J. R. Baxter, D. Westervelt, C. Randall, K. S. Delaplane, L. Cutts and W. T. Wilson (1999). Field control and biology studies of a new pest species, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae), attacking European honey bees in the Western Hemisphere. *Apidologie* 30(5): 361-366.
- Elzen, P. J., J. R. Baxter, D. Westervelt, C. Randall and W. T. Wilson (2000). A scientific note on observations of the small hive beetle, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae), in Florida, USA. *Apidologie* 31(5): 593-594.
- Eyer, M., Y. P. Chen, M. O. Schafer, J. Pettis and P. Neumann (2009a). Small hive beetle, *Aethina tumida*, as a potential biological vector of honeybee viruses. *Apidologie* 40(4): 419-428.
- Eyer, M., Y. P. Chen, M. O. Schafer, J. S. Pettis and P. Neumann (2009b). Honey bee sacbrood virus infects adult small hive beetles, *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research* 48(4): 296-297.
- Gillard, G. F. C. (2008). Everything I never wanted to know about the small hive beetle (and was definitely afraid to ask) Part II of two parts - My arsenal against the small hive beetle. *American Bee Journal* 148(2): 141-142.
- Giovenazzo, P. and C. Boucher (2010). A scientific note on the occurrence of the small hive beetle (*Aethina tumida* Murray) in Southern Quebec. *American Bee Journal* 150(3): 275-276.
- Giovenazzo, P. and P. Dubreuil (2011). Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in Eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology* 55(1): 65-76.

- Haque, N. M. M. and G. W. Levot (2005). An improved method of laboratory rearing the small hive beetle *Aethina tumida* Murray (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of General Applied Entomology* 34: 29-31.
- Hood, W. M. (2000). Overview of the small hive beetle, *Aethina tumida*, in North America. *Bee World* 81(3): 129-137.
- Hood, W. M. (2004). The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. *Bee World* 85(3): 51-59.
- Hood, W. M. (2006). Evaluation of two small hive beetle traps in honey bee colonies. *American Bee Journal* 146(10): 873-876.
- Hood, W. M. and G. A. Miller (2003). Trapping small hive beetles (Coleoptera : Nitidulidae) inside colonies of honey bees (Hymenoptera : Apidae). *American Bee Journal* 143(5): 405-409.
- Hood, W. M. and G. A. Miller (2005). Evaluation of an upper hive entrance for control of *Aethina tumida* (Coleoptera : Nitidulidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera : Apidae). *Journal of Economic Entomology* 98(6): 1791-1795.
- Hopkins, D. I., C. A. Nalepa, G. D. Hackney and K. A. Kidd (1999). Studies of the small hive beetle *Aethina tumida* in North Carolina. *American Bee Journal* 139(7): 536-536.
- Jacobson, S. (2005). Will the small hive beetle become a problem outside the south? *American Bee Journal* 145(9): 743-746.
- Kanga, L. and A. Somorin (2012). Susceptibility of the small hive beetle, *Aethina tumida*; (Coleoptera: Nitidulidae), to insecticides and insect growth regulators. *Apidologie* 43(1): 95-102.
- Kozak, P. (2010). Small hive beetle found in Southern Ontario. *Hivelights* 24(3): 30.
- Lafrenière, R. (2006). Manitoba extension report. Manitoba Agriculture and Food.
- Lounsberry, Z., S. Spiewok, S. F. Pernal, T. S. Sonstegard, W. M. Hood, J. Pettis, P. Neumann and J. D. Evans (2010). Worldwide diaspora of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae), a nest parasite of honey bees. *Annals of the Entomological Society of America* 103(4): 671-677.
- Lundie, A. E. (1940). The small hive beetle, *Aethina tumida*. *South African Department of Agriculture and Forestry Bulletin* no 220: 30.
- MAPAQ (2000). Évaluation des risques liés à l'entrée appréhendée d'*Aethina tumida* dans les ruchers du Québec. Direction de l'épidémiologie et de la santé animale (DÉSA). Direction générale de l'Alimentation (DGA). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). Québec, Canada:
- MAPAQ (2008). Découverte d'un premier cas d'infestation de colonies d'abeilles par *Aethina tumida* au Québec. Réseau d'Alerte et d'Information Zoosanitaire. Institut national de santé animale. Centre québécois d'inspection des aliments et de santé animale. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). Québec, Canada.
- Marrone, P. G. and R. E. Stinner (1984). Influence of soil physical factors on survival and development of the larvae and pupae of the bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *The Canadian Entomologist* 116(7): 1015-1023.

- Meikle, W. G. and J. M. Patt (2011). The effects of temperature, diet, and other factors on development, survivorship, and oviposition of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Economic Entomology* 104(3): 753-763.
- Murray, S. (2011). Notice of a quarantine area for bees. *Hivelights* 24(2): 50.
- Murrele, T. and P. Neumann (2004). Mass production of small hive beetles (*Aethina tumida*, Coleoptera : Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research* 43(2): 144-145.
- Nasr, M. (2006). Small hive beetle in Alberta. *Hivelights* 19(3).
- Neumann, P. and D. Hoffmann (2008). Small hive beetle diagnosis and control in naturally infested honeybee colonies using bottom board traps and CheckMite plus strips. *Journal of Pest Science* 81(1): 43-48.
- Neumann, P., C. W. W. Pirk, R. Hepburn, P. J. Elzen and J. R. Baxter (2001). Laboratory rearing of small hive beetles *Aethina tumida* (Coleoptera, Nitidulidae). *Journal of Apicultural Research* 40(3-4): 111-112.
- Pettis, J. (2003). Effects of temperature, moisture and soil type on the survival of the small hive beetle. Abstract in Somerville, 2003.
- Pettis, J. S. and H. Shimanuki (2000). Observations on the small hive beetle, *Aethina tumida* Murray, in the United States. *American Bee Journal* 140(2): 152-155.
- Potts, S. G., J. C. Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger and W. E. Kunin (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25(6): 345-353.
- Samara, R., J. C. Monje, C. P. W. Zebitz and T. Qubbaj (2011). Comparative biology and life tables of *Trichogramma aurosum* on *Cydia pomonella* at constant temperatures. *Phytoparasitica* 39(2): 109-119.
- Sammataro, D., P. Untalan, F. Guerrero and J. Finley (2005). The resistance of varroa mites (Acari : Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology* 31(1): 67-74.
- Schäfer, M. O., W. Ritter, J. S. Pettis and P. Neumann (2011). Concurrent parasitism alters thermoregulation in honey bee (Hymenoptera: Apidae) winter clusters. *Annals of the Entomological Society of America* 104(3): 476-482.
- Schmolke, M. D. (1974). A study of *Aethina tumida*: the small hive beetle. Vol. Certificate in Field Ecology, 178 pp Salisbury (Harare): University of Rhodesia.
- Somerville, D. (2003). Study of the small hive beetle in the USA. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. NSW Agriculture.
- Spiewok, S. and P. Neumann (2006). Infestation of commercial bumblebee (*Bombus impatiens*) field colonies by small hive beetles (*Aethina tumida*). *Ecological Entomology* 31(6): 623-628.
- Stanghellini, M. S., J. T. Ambrose and D. I. Hopkins (2000). Bumble bee colonies as potential alternative hosts for the small hive beetle (*Aethina tumida* Murray). *American Bee Journal* 140(1): 71-75.
- Suazo, A., B. Torto, P. E. A. Teal and J. H. Tumlinson (2003). Response of the small hive beetle (*Aethina tumida*) to honey bee (*Apis mellifera*) and beehive-produced volatiles. *Apidologie* 34(6): 525-533.

- Thomas, M. C. (1998). Florida pest alert - The small hive beetle. *American Bee Journal* 138(8): 565-567.
- Torto, B., R. T. Arbogast, D. Van Engelsdorp, S. Willms, D. Purcell, D. Boucias, J. H. Tumlinson and P. E. A. Teal (2007a). Trapping of *Aethina tumida* Murray (Coleoptera : Nitidulidae) from *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) colonies with an in-hive baited trap. *Environmental Entomology* 36(5): 1018-1024.
- Torto, B., D. G. Boucias, R. T. Arbogast, J. H. Tumlinson and P. E. A. Teal (2007b). Multitrophic interaction facilitates parasite-host relationship between an invasive beetle and the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(20): 8374-8378.
- Torto, B., A. T. Fombong, R. T. Arbogast and P. E. Teal (2010). Monitoring *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) with baited bottom board traps: occurrence and seasonal abundance in honey bee colonies in Kenya. *Environmental Entomology* 39(6): 1731-1736.
- Villani, M. G. and R. J. Wright (1990). Environmental influences on soil macroarthropod behaviour in agricultural systems. *Annual Review of Entomology* 35: 249-269.