



Le déclin de abeilles

Effets des faibles doses de pesticides chez l'abeille Actions sublétales et variation de la toxicité

Par Luc Belzunces

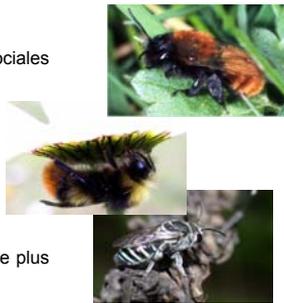
Laboratoire de Toxicologie Environnementale
UMR INRA-UAPV 406 Abeilles et Environnement

Centre de Recherche d'Avignon

1

Problématique Générale : Les abeilles

- 20.000 espèces d'abeilles sociales et solitaires
- 2.500 espèces en Europe
- 1.000 espèces en France
- Participent à la reproduction de plus de 80% des plantes à fleurs



2

Problématique générale : Le déclin des abeilles

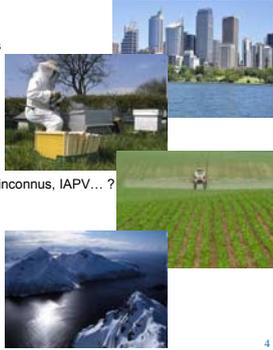
- Déclin constant des abeilles observé depuis plus de 30 ans
 - Concomitance avec la modernisation de l'agriculture et l'industrialisation
 - Déclin général des pollinisateurs (Biesmeijer et al. 2006, Science 313, 351-354, NRC 2006)
 - Déclin de l'entomofaune
- Attentes sociétales (socio-économique, réglementaire, environnementale)



3

Origines possibles du déclin des abeilles

- ❖ **Anthropisation**
 - Disparition et fragmentation des habitats
 - Accroissement de l'urbanisation
 - Diminution de la biodiversité végétale
- ❖ **Les pratiques humaines**
 - Pratique apicole
 - Meilleure technicité des apiculteurs
- ❖ **Les pathologies, parasites et prédateurs**
 - Meilleure information des apiculteurs
 - *Nosema ceranae*, *Vespa velutina*, virus inconnus, IAPV... ?
 - Facteurs aggravants ?
- ❖ **Les polluants environnementaux**
 - Les xénobiotiques en général, OGM ?
 - Les pesticides en particulier
- ❖ **Changement climatique**
 - Développement abeilles et parasites
 - Changement de la biodiversité végétale
 - Recrudescence des ravageurs
 - augmentation des pesticides



4

Problématique Générale : 2 - L'abeille domestique

- ❖ **Importance économique : L'apiculture**
- ❖ **Agriculture : Le premier insecte pollinisateur**
 - Accroissement des rendements
 - Amélioration de la qualité des récoltes
 - Élément de conduite des cultures
- ❖ **Environnement**
 - Bio-indicateur de haute sensibilité
 - Espèce modèle : Directives européennes 91/414/CEE et 96/12/CE
 - Insecte protégé par la loi (Europe, OCDE)
- ❖ **Scientifique**
 - Modèle d'étude des fonctions cognitives
 - Génôme séquencé (Nature 2006 443, 931-949)

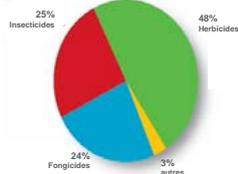


5

Les pesticides

Plus de 1400 pesticides (environ 400 commercialisés)

- Herbicides (mauvaises herbes)
- Insecticides (insectes)
- Fongicides (champignons)
- Acaricides (acariens)
- Nématocides (nématodes)
- Régulateurs de croissance des plantes



Les Herbicides, Fongicides et insecticides représentent 97% du marché mondial

6

Les pesticides

Il existe aussi :

- Rodenticides (rongeurs)
- Mollusquicides et hélicides (limaces, escargots)
- Algicides (algues)
- Bactericides (bactéries)
- Virucides (virus)
- Corvicides (corbeaux)
- Les avicides
- Les synergistes
- Et autres



7

Les effets toxiques des pesticides

❖ Les effets létaux : Ils entraînent la mortalité



❖ Les effets sublétaux

Un effet subléthal est un effet induit par un toxique à une dose ou un niveau d'exposition n'entraînant pas la mortalité de l'individu

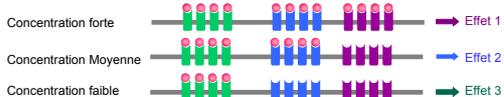
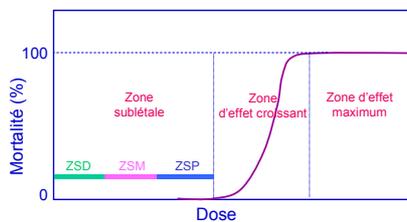
- Notion de temps d'action
- Le niveau subléthal ne peut pas être généralisé
- Les effets sublétaux ne sont pas tous dommageables



8

Niveaux d'action des toxiques

Affinité des cibles
1 > 2 > 3

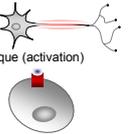


9

Cibles multiples des toxiques

Un toxique peut avoir plusieurs cibles

Les insecticides pyréthrinoides agissent :

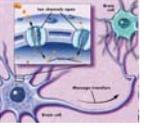
- 350 mg/L 10^{-9} M : Sur des pompes ioniques membranaires (ATPases) 
- 350 µg/L 10^{-6} M : Bloque les récepteurs neuronaux GABA (frein neuronal) 
- 350 ng/L 10^{-9} M : Sur des canaux ioniques neuronaux VD
: Système de transmission nerveuse cholinergique (activation) 
- 0,350 ng/L 10^{-12} M : Sur des systèmes de transduction du signal 

10

Cibles multiples des toxiques

Un toxique peut avoir des effets immédiats ou retardés

Les organophosphates (même famille que les gaz de combat) induisent :

- Immédiatement : Salivation, transpiration, tremblements, hyperactivité, incoordination, hypoactivité, mort (**Cible, AChE**) 
- Après 6 mois à 3 ans : Effets neurologiques permanents, vertiges, paralysies, troubles de la mémoire... (**Cible NTE**)
- Après 10 ans : Cancers, maladies immunitaires... (**Cibles : ST, hydrolases...**)

11

Cibles et effets multiples du fipronil

Action chez l'insecte

- Cible primaire : Bloque les récepteurs GABA (freins neuronaux)
- Cible secondaire : Bloque les récepteurs GluCl (freins neuronaux)

Action chez l'homme

- Bloquant d'un frein neuronal
- Empêche la synthèse d'énergie (effet aigu)
- Effets hormonaux (thyroïdes...)
- Perturbateur de la neurodifférenciation
 - 0,4 mg/L (10^{-6} M) : Inhibition
 - 0,4 µg/L (10^{-9} M) : Inhibition 10^{-9} M > 10^{-6} M
 - 0,4 ng/L (10^{-12} M) : Activation



12

Incidence sur les espèces d'abeilles

❖ Abeille domestique

- Individu fécond ≠ individu butineur
- Reine et ouvrières
 - Effet tampon pour l'exposition



❖ Abeilles solitaires

- Individus féconds = individus butineurs
- Un seul individu atteint
 - Effet direct sur la descendance

13

Les différents effets sublétaux

Deux catégories d'effets sublétaux

Les effets sublétaux non délétères

- Les effets sublétaux non délétères n'entraînent pas de dommages irréversibles chez les individus

Les effets sublétaux délétères

- N'entraînent pas la mortalité de l'individu
- Compromettent la vitalité des individus et/ou la survie des individus, des populations et des peuplements.
- Sont de natures variées

14

Effets délétères des faibles doses de toxiques chez l'abeille

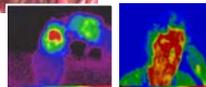
➔ Effets neuraux



➔ Effets comportementaux



➔ Effets physiologiques



➔ Effets biochimiques et cellulaires

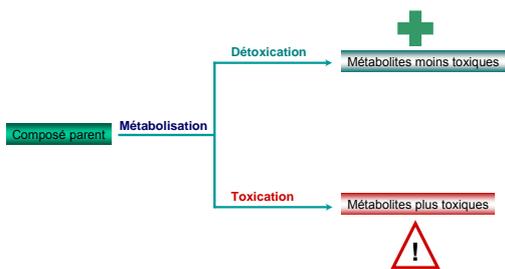


15

Effets sublétaux des pesticides chez l'abeille domestique *Apis mellifera*

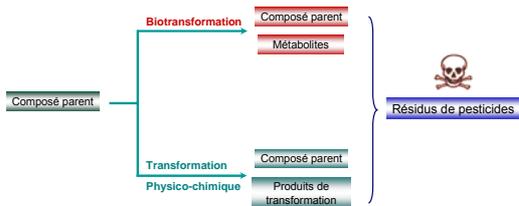
16

Transformation des pesticides dans les organismes



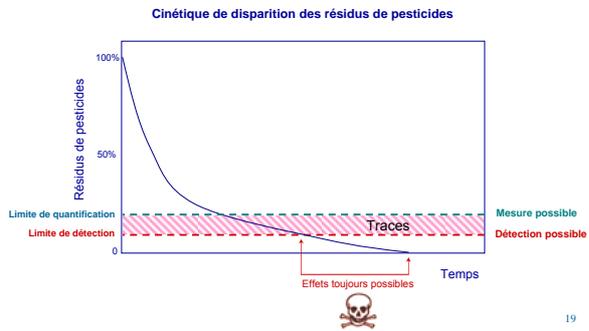
17

Les résidus de pesticides



18

Détection des résidus de pesticides



Les résidus de pesticides

Limites de détection dans les matrices complexes

OP, Organochlorés, Carbamates, Pyréthrinoïdes

- Fin 1980 : 50 - 100 µg/kg
- Fin 1990 : 10 - 50 µg/kg
- Fin 2010 : 0,05 - 0,1 µg/kg
- A partir de 2000 : Effets à 0,001 µg/kg

20

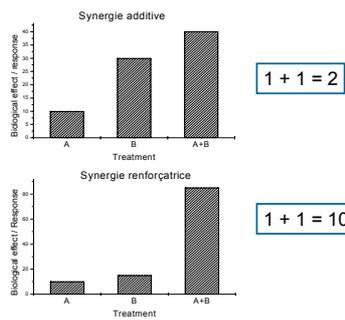
Effets de l'exposition sur la toxicité des pesticides chez l'abeille

21

Synergie létales à doses sublétales

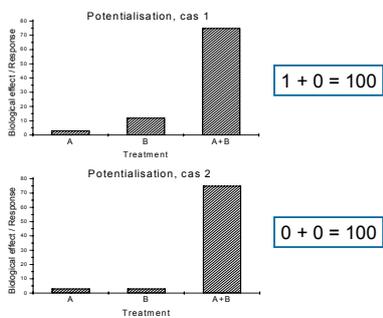
22

Effets des associations de toxiques Les synergies



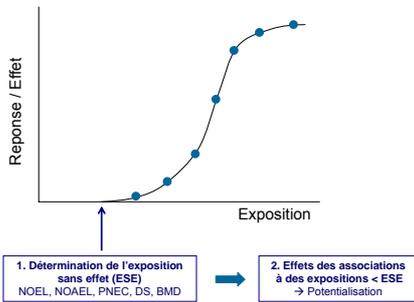
23

Effets des associations de toxiques Les potentialisations



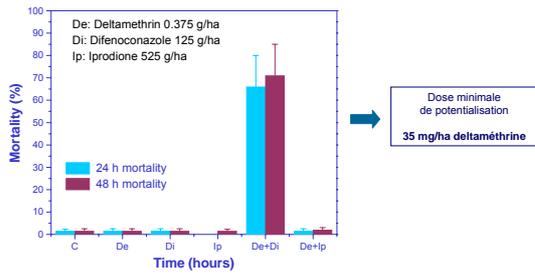
24

Stratégie d'étude des associations de toxiques Evaluation des dangers



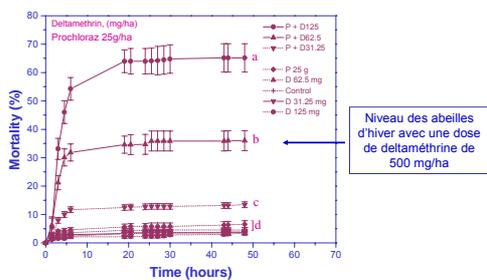
25

Interactions entre la deltaméthrine et les fongicides chez l'abeille



26

Variation saisonnière de la synergie entre la deltaméthrine et le prochloraze (imidazole) chez l'abeille *Apis mellifera*



27

Synergies entre les fongicides et les insecticides pyréthroïdes

Fongicides azoles

Imidazoles → Synergie
 Triazoles → Synergie

Autres fongicides

Dicarboxamides → Pas de synergie
 Autres → Non connu

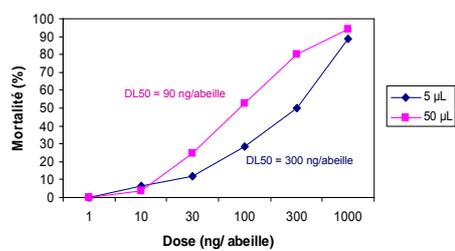
28

Effets de l'exposition sur la toxicité des pesticides chez l'abeille

29

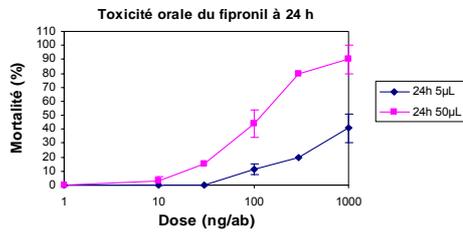
Effet de la concentration sur la toxicité de l'imidaclopride pour l'abeille

Toxicité orale de l'imidaclopride à 24 h



30

Effet de la concentration sur la toxicité du fipronil pour l'abeille



Volume 50 µL : DL50 = 110 ng/abeille

Volume 5 µL : DL50 > 2000 ng/abeille

→ Facteur > 20

31

Influence de la nature du traitement sur la toxicité des pesticides

	DL50 orale (µg/abeille) (traitement unique 5 µl/abeille)	DL50 orale (µg/abeille) (traitements multiples 100 µl/abeille)	Facteur U/M
Alphaméthrine	0.069	0.00450	x 15
Deltaméthrine	0.244	0.00031	x 787
Cyhalothrine	0.535	0.00048	x1115
Cyperméthrine	0.904	0.00064	x1413
Fenvalérate	6.397	0.00500	x1279
S-Fenvalérate	0.352	0.00155	x 227
Bifenthrine	0.128	0.00067	x 191
Etofenprox	0.724	0.00248	x 292
Fluvalinate	24.602	0.09400	x 262
Actellic	0.135	0.00024	x 563
Volaton	0.071	0.00032	x 222

32

Influence du traitement sur l'effet choc des pesticides

	Dosage kg s.a./ha	RT25 (h)
Fenvalérate	0.900	6
Fluvalinate	0.900	<2
Perméthrine	0.900	>24
Carbaryl (Sévin-4-oil)	0.900	>72
Carbaryl (Sévin-4oil) ULV	0.450	2
Malathion	0.900	40
Malathion ULV	0.560	131
Toxaphène	24.602	<2-4
Toxaphène + DDT	0.135	<8-32

33

Incidence de la variation de toxicité en évaluation du risque chez l'abeille

Constat

- A doses égales, le danger d'une substance dépend de sa concentration

Questions

- Quelle est la concentration/volume d'administration qui reflète le mieux la toxicité d'un produit ?
- Quelle incidence sur l'évaluation du risque chez l'abeille ?

Rapport de risque : $HQo = \frac{\text{Exposition (Dose g/ha)}}{\text{Toxicité = / DL50 } \mu\text{g/Ab}}$



- $HQo \geq 2500$: Produit classé dangereux pour l'abeille
- $50 \leq HQo < 2500$: Etudes de toxicité
- $HQo < 50$: Pas d'études, sauf si RCI

34

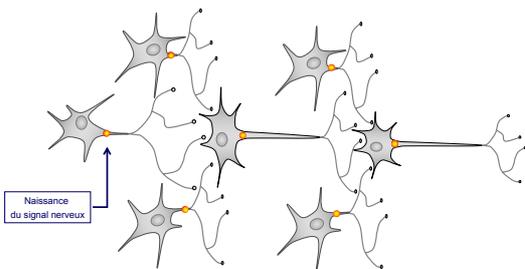
Les néonicotinoïdes

Une relation dose-mortalité complexe

35

Communication entre les cellules nerveuses

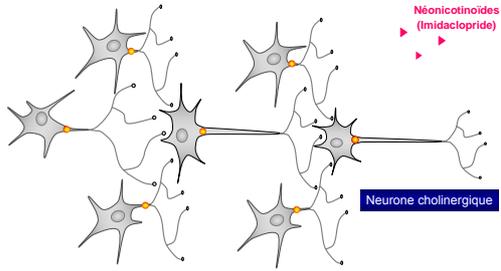
Réseaux de neurones



36

Action des insecticides néonicotinoïdes

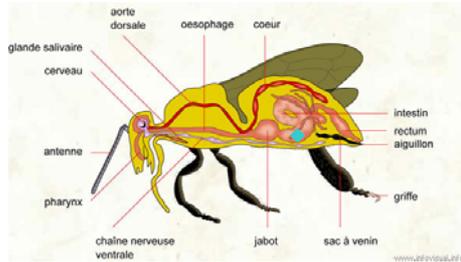
Comportement des neurones en présence d'imidaclopride



37

Action de contact des insecticides

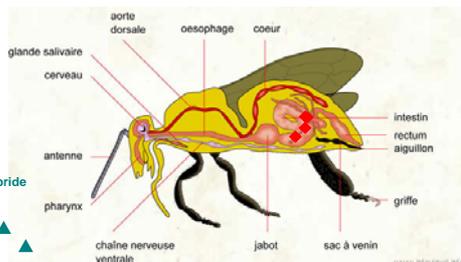
Insecticides neurotoxiques



38

Action orale des insecticides

Imidaclopride



39

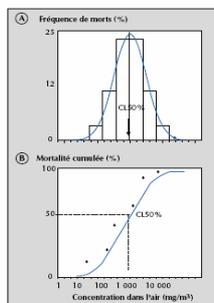
Actions différentielles
des expositions aiguë et répétée

40

**Atypie des relations
dose-réponse**
Cas de la toxicité aiguë

41

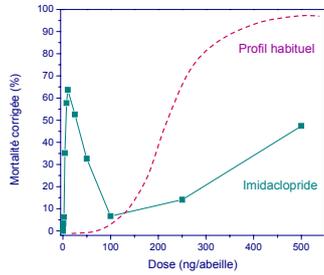
La relation dose-mortalité



Distribution log-normale

42

Relation dose-mortalité de l'imidaclopride chez l'abeille



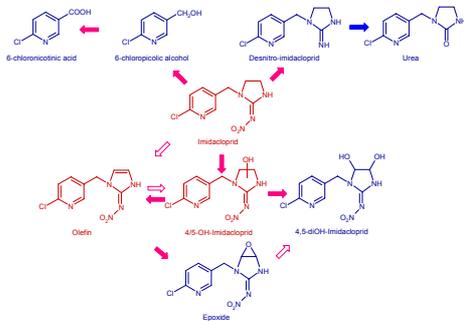
43

Atypie des relations dose-réponse

Cas de la toxicité chronique

44

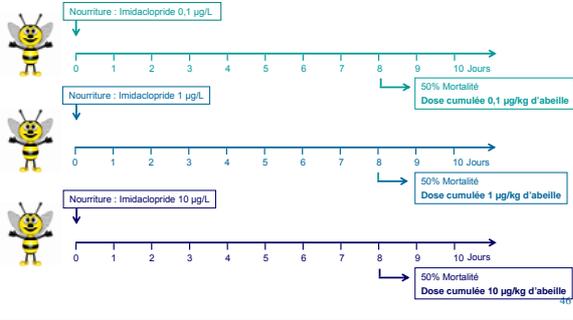
Métabolisation de l'imidaclopride dans la plante



45

Action différentielle des expositions aiguë et chronique

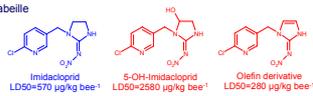
Exposition des abeilles à l'imidaclopride et ses métabolites



Toxicités aiguë et subchronique de l'imidaclopride et de ses métabolites

Mode d'intoxication aiguë

Deux métabolites toxiques pour l'abeille



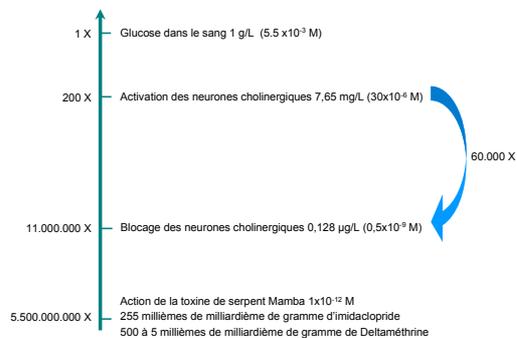
Mode d'intoxication chronique

Tous les métabolites sont toxiques pour l'abeille, mais à des doses 6000-100 000 fois plus faibles (0,1 µg/kg abeille⁻¹, dose cumulée nécessaire pour induire 50% de mortalité)



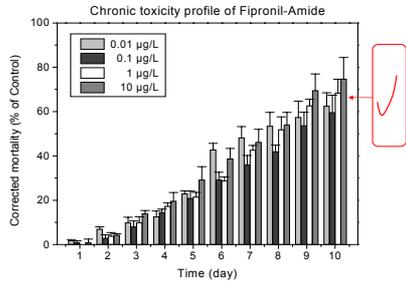
47

Action toxicologique de l'imidaclopride chez l'abeille



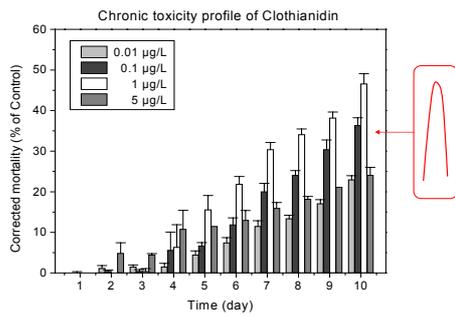
48

Toxicité chronique du métabolite Fipronil-amide chez l'abeille



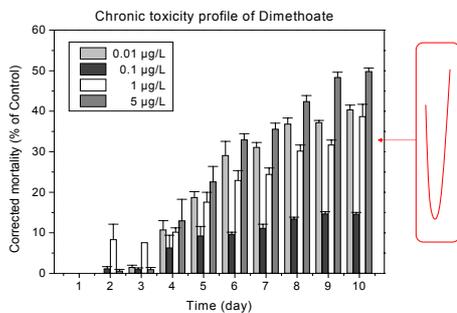
49

Toxicité chronique de la Clothianidine Fipronil-amide chez l'abeille



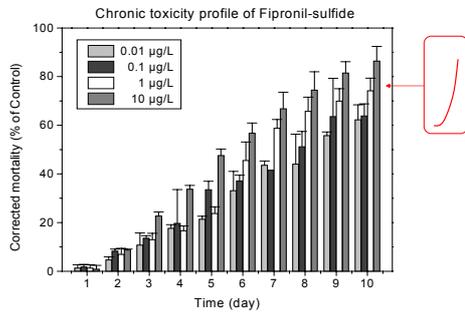
50

Toxicité chronique du diméthoate chez l'abeille



51

Toxicité chronique du Fipronil-sulfide chez l'abeille



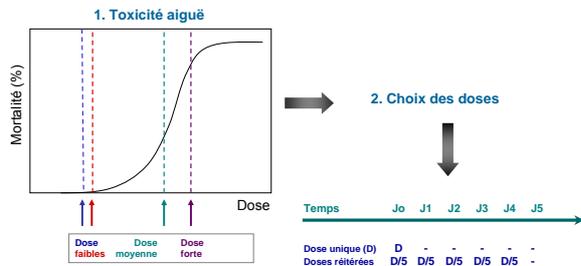
52

Atypie des relations dose-réponse

Cas des doses réitérées

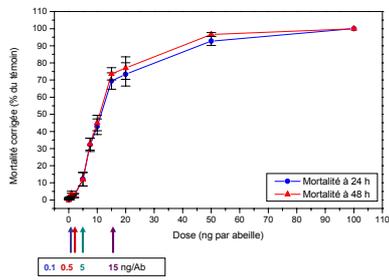
53

Stratégie d'étude des effets de doses réitérées de Néonicotinoïdes chez l'abeille



54

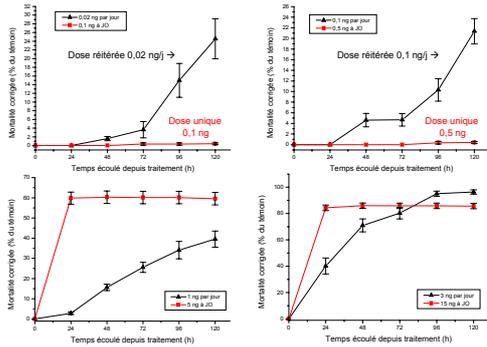
Toxicité aiguë de la Clothianidine



DL50 = 11 ng / abeille à 24 et 48 h
Mortalité témoin = 0,18%

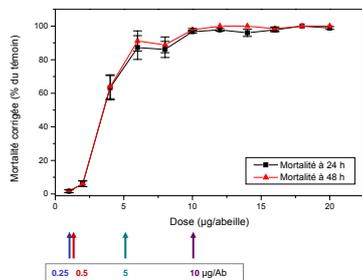
55

Effets de doses répétées de Clothianidine chez l'abeille



56

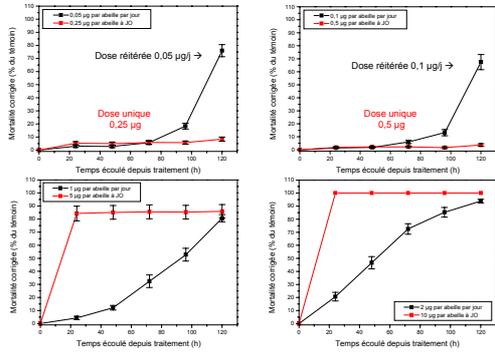
Toxicité aiguë de l'Acétamipride chez l'abeille



DL50 = 3,5 µg / abeille à 24 et 48 h
Mortalité témoin = 0%

57

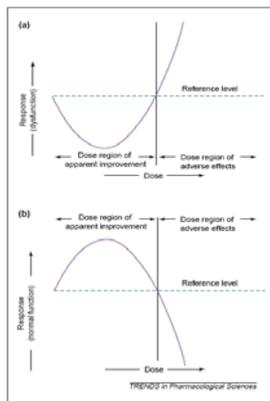
Effets de doses répétées d'Acétamipride chez l'abeille



58

Phénomène d'hormesis

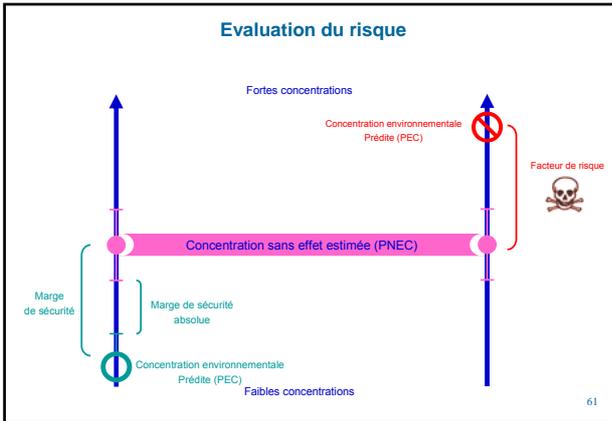
D'après Calabrese et Baldwin, 2001 : *Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology*. TIPS 22, 285-291

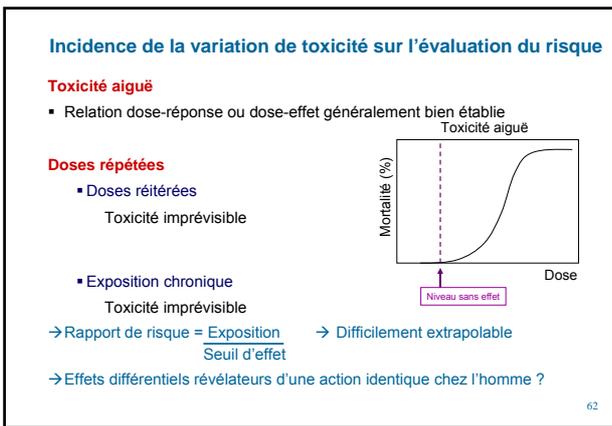


59

Conclusion sur les doses répétées

60





Caractère imprévisible des effets des doses cumulées

Produit	Aiguë	Chronique	Réitérée
1 Imidaclopride	X	X	X
2 6-CNA IMI	X	X	X
3 Desnitro IMI	X	X	X
4 Urée IMI	X	X	X
5 5-OH IMI	X	X	X
6 Olfine	X	X	X
7 4,5-OH IMI	X	X	X
8 Fipronil	X	X	X
9 Désulfinyf Fip.	X	X	X
10 Fipronil Amide	X	X	X
11 Fipronil Sulfide	X	X	X
12 Fipronil sulfone	X	X	X
13 Acetamiprid	X	X	X
14 AAP M1	X	X	X
15 AAP M2	X	X	X
16 AAP M3	X	X	X
17 AAP M4	X	X	X
18 Deltaméthrine	X	X	X
19 Diméthoate/parathion	X	X	X
20 Coumaphos	X	X	X
21 Dinotéfurane	X	X	X
22 Thiaméthoxam	X	X	X
23 Clothianidine	X	X	X

63

Conclusions sur l'action des toxiques à fortes et faibles doses, et à doses uniques et répétées

- Effets chez les autres organismes révélateurs des effets chez l'homme ?
 - Relation dose-réponse généralement cohérente en exposition aiguë
 - Effets à faibles doses parfois supérieurs à ceux induits à doses fortes
 - Perte fréquente de la cohérence de la relation dose-réponse en exposition chronique ou à doses répétées
 - Impossibilité totale d'extrapoler la toxicité induite en exposition répétée à partir de la toxicité aiguë
 - Impossibilité de prédire la toxicité en exposition répétée
- ⇒ La caractérisation des danger doit être faite au niveau d'exposition pertinent

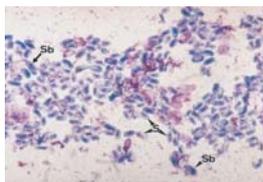
64

Interactions Toxicopathologiques Une cause du déclin des abeilles ?

65

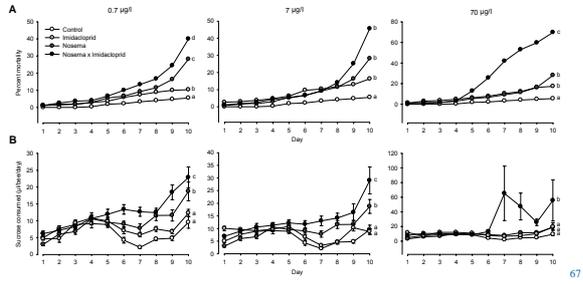
Interaction entre un pathogène et un pesticide Cas de l'association *Nosema* x Imidaclopride

- **Agent pathogène : *Nosema* (Microsporidie)**
- **Insecticide : Imidaclopride**
- **Exposition à l'imidaclopride : teneurs environnementale**
- **Paramètres observés**
 - Immunité sociale : Glandes hypopharyngiennes – Glucose oxydase
 - Immunité individuelle : Hémocytes – Phénol oxydase
 - Consommation de nourriture
 - Teneurs en *Nosema*



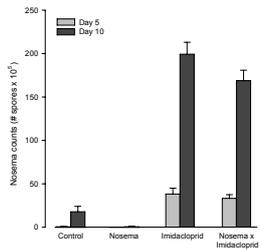
Alaux, C., Brunet J.L., Dussaubat C.M., Mondet F., Tchamitchan S., Cousin M., Brillard J., Baldy A., Belzunces L.P., and Le Conte Y. (2010). Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees. *Environ Microbiol (UK)* 12, 774-782

Association Nosema x Imidaclopride Consommation de nourriture et mortalité



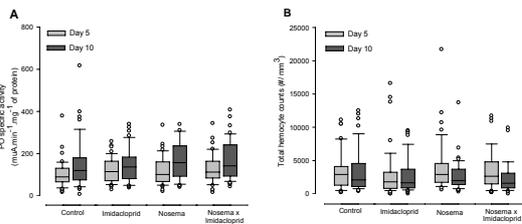
67

Association Nosema x Imidaclopride Prolifération de Nosema



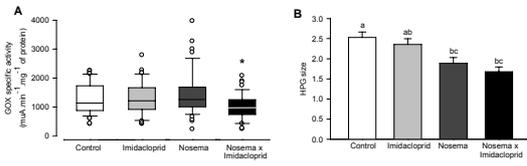
68

Association Nosema x Imidaclopride Immunité individuelle



69

Association Nosema x Imidaclopride Immunité sociale



70

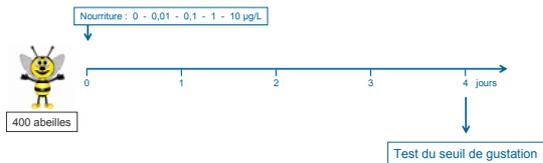
Effets neuraux des pesticides

Cas du seuil de gustation

71

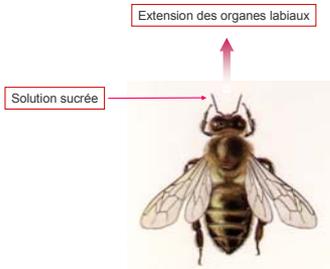
Effet du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation

Exposition des abeilles au Thiaméthoxam



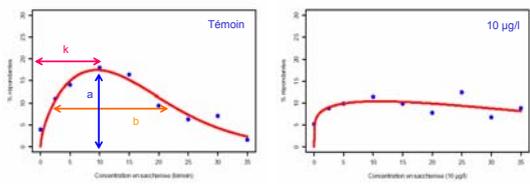
72

Phénomène d'habituation chez l'abeille adulte



73

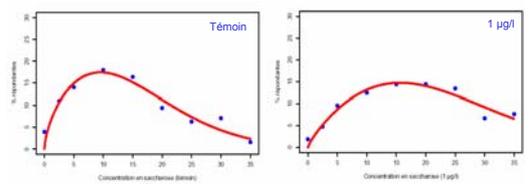
Effets du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation: 10 µg/L



k Paramètre de repérage
 a Paramètre de forme (variance de la distribution)
 b Paramètre d'échelle (mode de distribution)

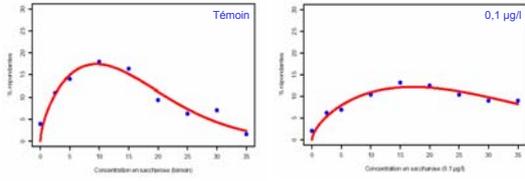
74

Effets du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation : 1 µg/L



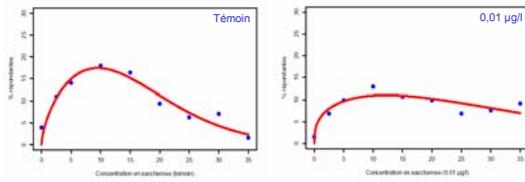
75

Effets du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation : 0,1 µ/L



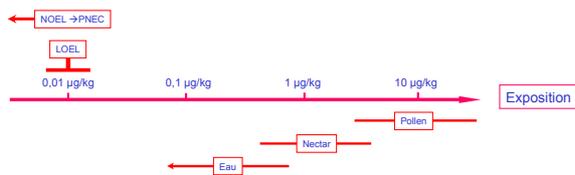
76

Effets du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation : 0,01 µg/L



77

**Effets du Thiaméthoxam sur le seuil de gustation
Evaluation du risque**



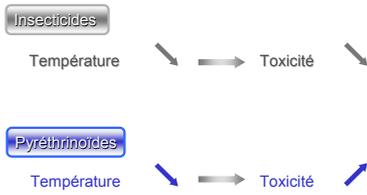
78

Effets physiologiques des pesticides

Cas de la thermorégulation

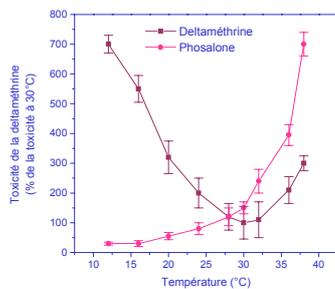
79

Coefficients de température des insecticides



80

Coefficient de température des pesticides



81

Effets possibles des pyréthrinoïdes sur la thermorégulation

Implication de la thermorégulation dans le coefficient de température négatif des pyréthrinoïdes ?

Effets des azoles sur la thermorégulation de l'abeille ?

Effets conjoints des azoles et des pyréthrinoïdes sur la thermorégulation de l'abeille ?

82

Thermogenèse de l'abeille

• Localisation : thorax

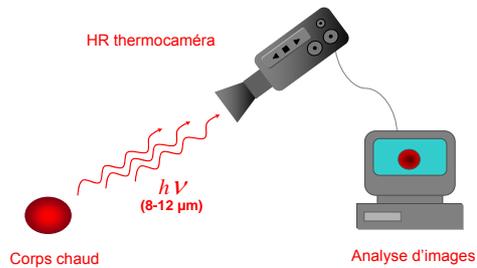


Muscles de vol

• Mécanisme : contractions tétoniques des muscles de vol dues à un mouvement discret du scutelum

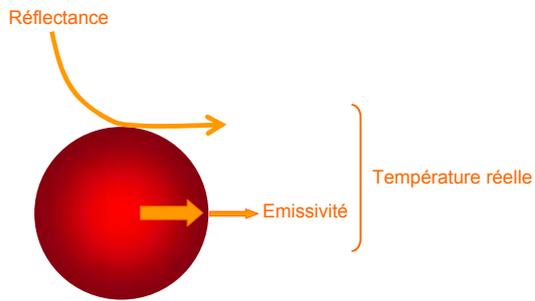
83

Principe de la thermographie infra-rouge



84

Calcul de la température réelle d'un corps chaud



85

Traitement des données infrarouge

Algorithmes complexes

- 1 + 0 = 1
- 1 + 1 = 2
- 1 + 2 = 3
- 1 + 3 = 4
- 1 + 4 = 5
- 1 + 5 = 6
- 1 + 7 = 8
- 1 + 8 = 9
- 1 + 9 = 10

86

Traitement des données infrarouge

$$\mathcal{E}_{app} = \sum_{n=\alpha}^{n=\alpha} \text{Log } \theta \, dx + \tau + \mathcal{E}_0 + \text{Log } \theta_{app}$$

$$\Phi = a \cdot b^2 \int_a^v \text{Log } x \cdot dx + a^2 \cdot \theta + \alpha \cdot \mathcal{E} + b \cdot \mathcal{E}_0$$

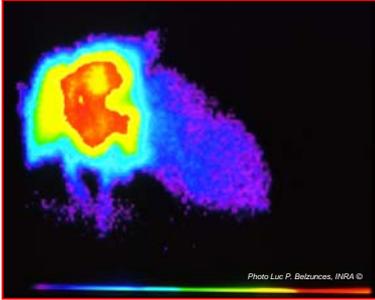
$$\mathcal{E} = \text{Log } \mathcal{E}_0 + 2 a \cdot \alpha^2 + \tau + \mathcal{E}_0 + \text{Log } \mathcal{E}_{app}$$

$$\tau = \pi \cdot S^2 + \rho + e^{(h\nu + a\theta)}$$

La température est là $\rightarrow \theta = h\nu + e^{\tau + \alpha} + \pi \text{Log } \mathcal{E} + \Phi$

87

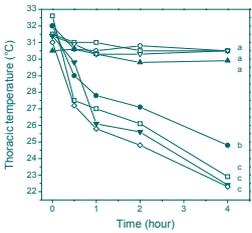
Analyse thermographique d'une abeille



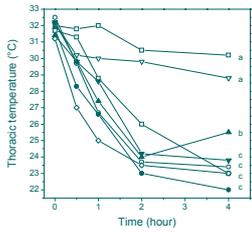
88

Effet hypothermiant des insecticides pyréthroïdes chez l'abeille

Effects of pyrethroids (10 pmol) on honey bee thermoregulation



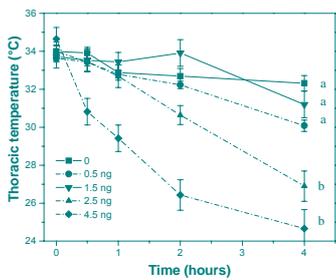
Effects of pyrethroids (DL50/8) on honey bee thermoregulation



- Control
- Fluxi230
- ▲ Esfen28.75
- ▼ Bifen1.E25
- Azadir3.375
- ◇ Delt2.5
- ▽ Cyp4.375
- Chel3.375

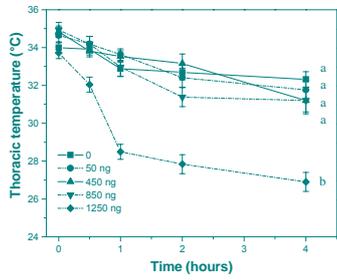
89

Effets de doses sublétales de deltaméthrine sur la thermorégulation de l'abeille



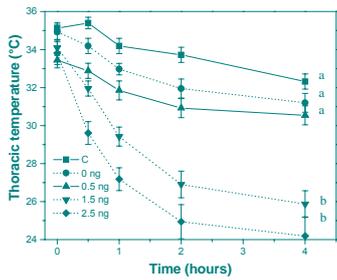
90

Effets de doses sublétales de prochloraze sur la thermorégulation de l'abeille



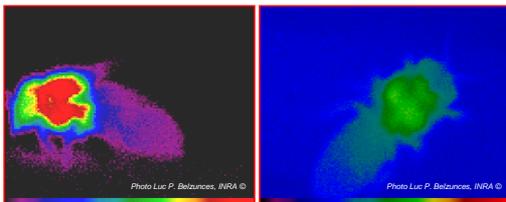
91

Actions conjointes de la deltaméthrine et du prochloraze sur la thermorégulation de l'abeille



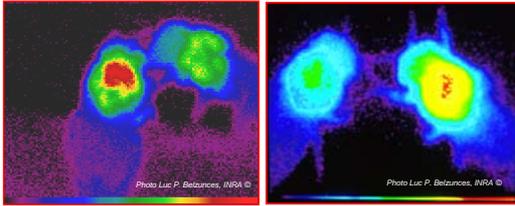
92

Effet hypothermiant des insecticides pyréthrinoïdes chez l'abeille



93

Effet hypothermiant des insecticides pyréthrinoïdes chez l'abeille



94

Découplage des muscles de vol

❖ Induits par certains insecticides neurotoxiques

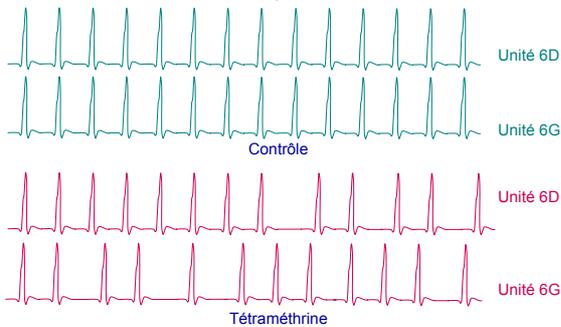
- Le DDT
- Les pyréthrinoïdes
- Les carbamates

❖ Impacts sur l'abeille

- Difficulté ou impossibilité de vol
- Altération de la thermogénèse

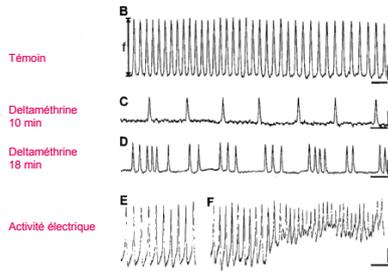
95

**Découplage des muscles de vol
Action des pyréthrinoïdes**



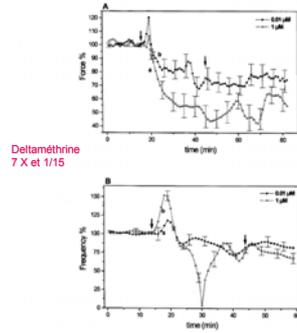
96

Effet de la deltaméthrine sur l'activité cardiaque de l'abeille



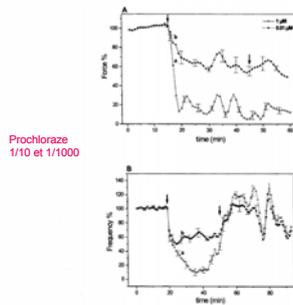
97

Effet de la deltaméthrine sur l'activité cardiaque de l'abeille



98

Effet du prochloraz sur l'activité cardiaque de l'abeille



99

Effets sublétaux des pesticides affectant le retour des abeilles à la ruche

❖ Effets physiologiques

- Thermorégulation : hypothermie
- Mécaniques : Découplage des muscles de vol : Action sur l'activité cardiaque

❖ Effets neuro-comportementaux

- Altération du sens de l'orientation
- Altération des capacités mnésiques

❖ Effets biochimiques

- Déviation du métabolisme énergétique

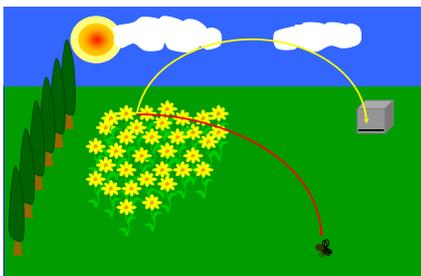
100

Effets comportementaux des pesticides

Cas du sens de l'orientation

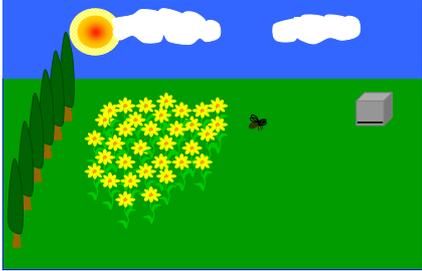
101

Altération des mécanismes d'orientation



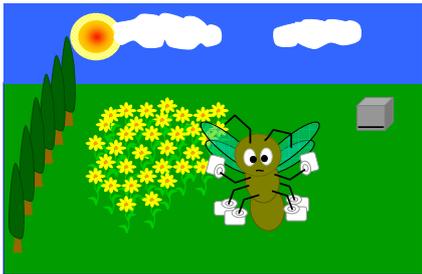
102

Altération des mécanismes d'orientation



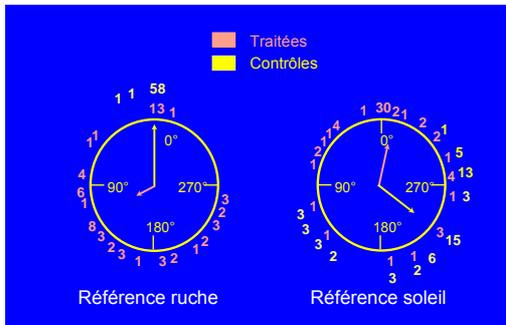
103

Altération des mécanismes d'orientation



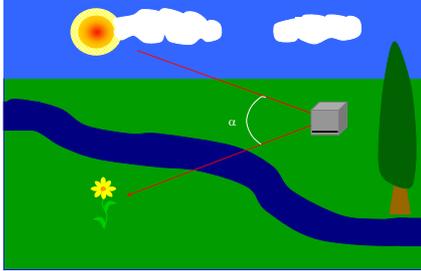
104

Effet subléta1 de la deltaméthrine sur le vol de retour des abeilles



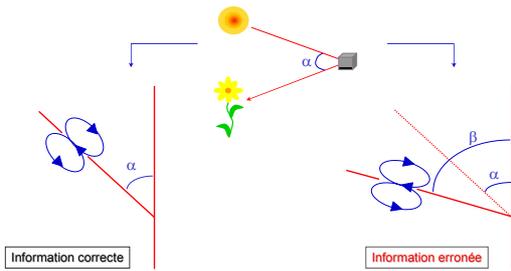
105

Localisation d'une source de nourriture



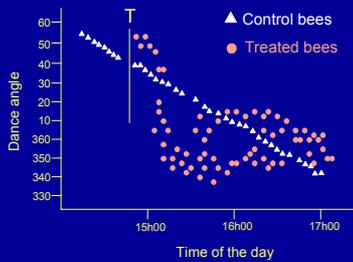
106

Erreur dans la communication de l'emplacement d'une source de nourriture



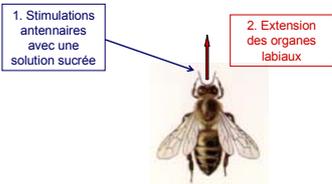
107

Effet d'un traitement subléta au parathion sur la communication de l'emplacement d'une source de nourriture



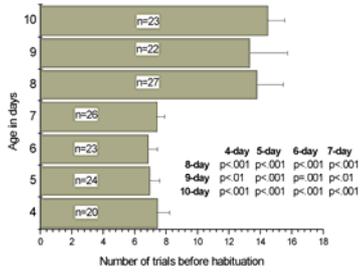
108

Phénomène d'habituation



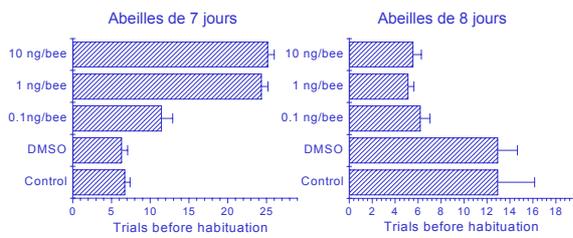
109

Phénomène d'habituation au cours du développement de l'abeille adulte



110

Effets de doses sublétales d'imidaclopride sur le phénomène d'habituation chez l'abeille de 7 et 8 jours



111

Conclusion sur les faibles doses de pesticides

- Les effets peuvent être plus importants à doses faibles qu'à doses fortes
- Les effets de doses répétées ne sont pas prévisibles
- Les faibles doses peuvent induire des effets à des doses non détectables



112

Remerciements

Personnel Laboratoire de Toxicologie Environnementale

- Dr Jean-Luc Brunet, Directeur Adjoint UMR 406
- Dr Alexandra Badiou
- Dr François Faivre d'Arcier
- Marianne Cousin
- Sylvie Tchamitchian

Etudiants

- Dr Cyril Vidau
- Nicolas Cerrutti, Ingénieur
- Chloé Dibos, Master
- Maxime Labrosse, Master

Personnel temporaire

- Jérémy Belzunces
- Chloé Belzunces
- Grégoire Le Conte

113
