

IMPACT DE TRAITEMENTS PHYTOPHARMACEUTIQUES EFFECTUES EN CONDITIONS SEMI-NATURELLES SUR LES PERFORMANCES D'APPRENTISSAGE OLFACTIF DE BUTINEUSES

A. Decourtye¹, M. Tisseur², J. Gandrey², M.H. Pham-Delègue¹

¹ Laboratoire de Neurobiologie des Invertébrés, INRA, BP23, 91440 Bures/Yvette

² Association de Coordination Technique Agricole, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

INTRODUCTION

La procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis chez des ouvrières maintenues en contention a précédemment été employée dans le but de mesurer l'impact de pesticides sur le comportement de l'abeille domestique (Taylor *et al.*, 1987 ; Mamood et Waller, 1990 ; Stone *et al.*, 1997 ; Abramson *et al.*, 2000). Mais aucun de ces auteurs n'a cherché à vérifier que les effets comportementaux détectés à l'échelle individuelle pouvaient être confirmés dans des essais de terrain, sur des abeilles en vol libre. Pourtant, une question fondamentale est de savoir dans quelle mesure les essais effectués sur des individus maintenus en contention peuvent permettre d'étudier ou de prédire les effets sublétaux des polluants affectant des butineuses en vol libre.

Aussi, il nous paru nécessaire de confirmer les effets comportementaux de l'imidaclopride précédemment observés au laboratoire (Decourtye *et al.*, 2002) par des essais de terrain (cage de vol) dans lesquels les abeilles sont en vol libre. Une étude parallèle a été conduite avec un autre insecticide, la deltaméthrine, un pyréthrianoïde dont la toxicité létale et sublétales est connue chez l'abeille (Florelli *et al.*, 1987 ; Vandame *et al.*, 1995).

Dans un deuxième temps, nous avons entrepris de tester l'intérêt de la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis en tant qu'essai bio-indicateur d'une intoxication sublétales au champ. En d'autres termes nous avons testé la capacité de cet essai biologique à mesurer des effets sublétaux chez des butineuses ayant été préalablement exposées à un produit appliqué dans des conditions proches de l'utilisation agronomique (sous tunnel).

MATERIEL ET METHODES

Expérimentation en cage de vol

Deux colonies d'environ 6000 abeilles (*Apis mellifera ligustica*) ont été introduites dans deux cages de vol extérieures (2,5 × 2,5 m, 2 m de hauteur).

L'évaluation des capacités de discrimination olfactive des butineuses a été permise par l'introduction régulière dans la cage de vol d'un dispositif expérimental fondé sur le principe d'une fleur artificielle (Pham et Masson, 1985). Lors de la phase de conditionnement, les 6 fleurs artificielles du dispositif distribuent une solution sucrée et diffuse une odeur (linalol pur). Grâce à un conditionnement associatif de type opérant, les butineuses identifient l'odeur délivrée par le plateau comme un signal alimentaire. La phase de test consiste à introduire dans la cage de vol un dispositif n'étant pas approvisionné en sirop et ne diffusant du linalol que dans une fleur sur deux. Nous dénombrons alors les abeilles présentes sur les fleurs avec et sans odeur.

La phase de test a été réalisée lors de 3 périodes (6-8 jours) : avec une récompense alimentaire non contaminée (saccharose 500 g/Kg, acétone à 1% v/v) ; avec une récompense alimentaire contaminée soit avec 24 µg/Kg (ppb) d'imidaclopride, soit avec 500 ppb de deltaméthrine ; avec de nouveau une récompense alimentaire non contaminée. A la fin de chaque période, des butineuses ont été prélevées sur le dispositif et ont été soumises à une procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis.

Expérimentation sous tunnel (d'après la méthode CEB n°129 ; ANPP, 1996)

Les six colonies (*Apis mellifera mellifera*) retenues pour l'expérimentation ont été les plus homogènes possibles et ont été composées d'environ 30 000 ouvrières. Le dispositif expérimental comprend 6 tunnels :

- 3 tunnels témoins avec 4 parcelles de phacélie (*Phacelia tanacetifolia*) pulvérisées à l'eau (385 l/ha).
- 3 tunnels traités avec 4 parcelles de phacélie pulvérisées avec le mélange Decis®Micro (6,25% deltaméthrine) - Sportak®45 CE (450 g/l prochloraze) aux doses respectives de 0,08 kg/ha et 1,33 l/ha. La bouillie est pulvérisée à raison de 385 l/ha.

Chaque tunnel a une surface de 160 m² (20 x 8 m, 3,5 m de hauteur). A l'intérieur, 4 zones d'une surface unitaire de 16 m² (8 x 2 m), sont délimitées et séparées par des allées. Les traitements sont effectués en fin de matinée (vent faible, ciel dégagé) avant la période de pleine activité des butineuses.

Les butineuses ont été prélevées sur les fleurs de phacélie puis soumises à la procédure de conditionnement. Nous avons réalisé 3 prélèvements : 24 h avant le traitement (J₋₁), 2 h après le traitement (J₀) et 24 h après le traitement (J₊₁).

Procédure de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis

Le réflexe d'extension du proboscis peut être déclenché par l'application d'une solution sucrée sur les antennes, les pièces buccales ou les tarsi. Lorsque cette stimulation (stimulus inconditionnel) est associée à la présence d'un stimulus olfactif (stimulus conditionnel) et que l'on administre un renforcement alimentaire comme récompense, on obtient ultérieurement une extension du proboscis par présentation du stimulus olfactif seul (réponse conditionnée), cela grâce à un conditionnement associatif de type pavlovien (Bitterman *et al.*, 1983). Le nombre de réponses conditionnées d'un insecte est le paramètre mesuré révélant ses capacités d'apprentissage olfactif.

Chaque abeille subit 3 essais de conditionnements (C1, C2, C3) espacés de 15 à 20 minutes. Lors de la phase de test, une abeille est soumise à 5 tests (T1 à T5) espacés de 15 à 20 minutes.

RESULTATS**Expérimentation en cage de vol**

Contrairement à l'imidaclopride, le traitement avec la deltaméthrine a provoqué une augmentation de la mortalité. De plus, les performances d'apprentissage enregistrées d'une part chez les butineuses en vol libre par le dispositif de fleurs artificielles (Fig. 1), et d'autre part chez les butineuses maintenues en contention par le conditionnement de l'extension du proboscis (Fig. 2), révèlent une toxicité sublétales pour l'imidaclopride, mais pas pour la deltaméthrine.

Expérimentation sous tunnel

La procédure de conditionnement de l'extension du proboscis a mis en évidence un effet sublétales chez des butineuses ayant subi un traitement phytosanitaire en conditions semi-contrôlées. Ces effets ont été détectés 2 h après la pulvérisation du mélange Decis®-Sportak® aux doses d'utilisation agricole (Fig. 3).

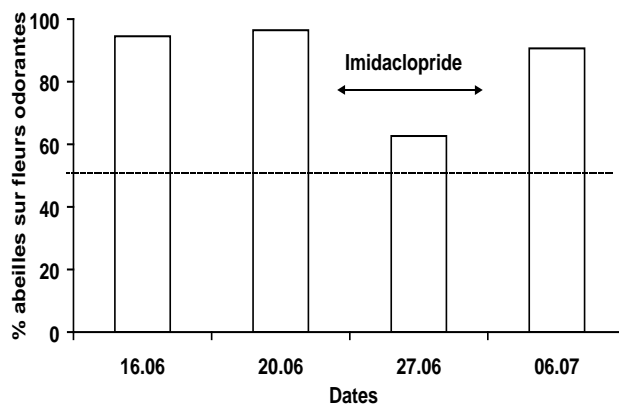


Figure 1 : Performances de discrimination olfactive en cage de vol. La ligne en pointillé indique une distribution théorique aléatoire des butineuses entre les fleurs odorantes et les fleurs non odorantes (50%-50%).

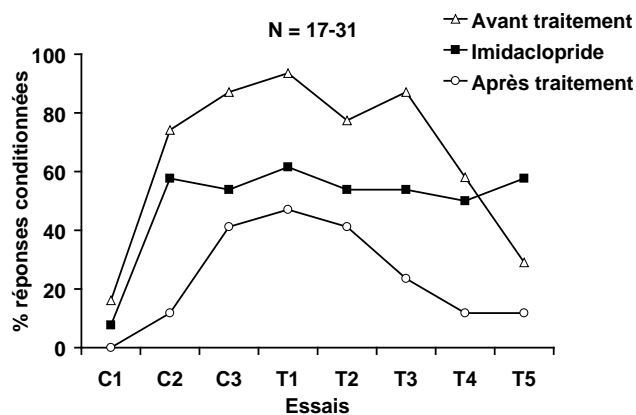


Figure 2 : Performances d'apprentissage des butineuses prélevées en cage de vol. Pendant et après le traitement avec l'imidaclopride, le nombre de réponses conditionnées chez les butineuses est significativement inférieur à celui des butineuses prélevées avant le traitement (test de Khi-deux, 1 ddl, $P < 0,01$).

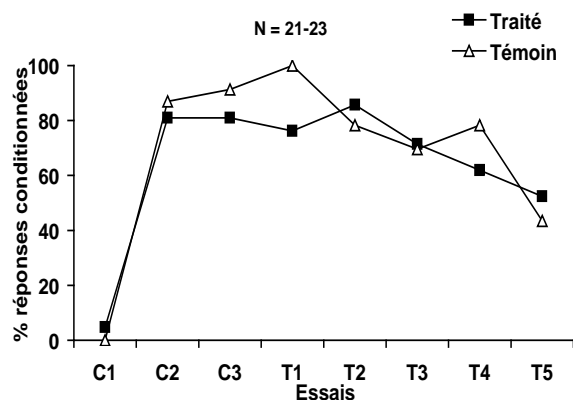


Figure 3 : Performances d'apprentissage 2 h après le traitement Décis®-Sportak® en tunnel (J₀). Pour l'essai T1, le nombre de réponses conditionnées des butineuses provenant des tunnels traités est significativement différent de celui des butineuses provenant des tunnels témoins (test de Khi-deux, 1 ddl, $P < 0,05$).

CONCLUSION

Les réponses observées lors d'un conditionnement olfactif sur abeilles en contention sont corrélées à celles observées lors d'un conditionnement olfactif sur abeilles en vol libre. Ainsi, les effets mesurés par la procédure de conditionnement d'extension du proboscis semblent représentatifs de ceux observés dans des conditions expérimentales plus naturelles.

De plus, la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis réalisé en laboratoire semble pouvoir détecter la toxicité sublétales d'un traitement phytosanitaire appliqué selon les conditions agronomiques.

En conclusion, nos résultats indiquent que la procédure de conditionnement de l'extension du proboscis peut présenter un intérêt en tant qu'essai bio-indicateur d'une intoxication sublétales en conditions agronomiques.

REMERCIEMENTS

Ces travaux ont été financés en majeure partie dans le cadre d'un programme européen pour l'apiculture coordonné par le Ministère de l'Agriculture.

REFERENCES

- Abramson, C.I., Aquino, I.S., Ramalho, F.S., et J.M. Price. 1999. The effect of insecticides on learning in the Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37:529-535.
- A.N.P.P. 1996. Méthode d'évaluation, sous tunnel en plein air, des effets à court terme des produits phytopharmaceutiques sur l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Méthode n° 129. Commission des Essais Biologiques, A.N.P.P., Paris.
- Bitterman, M.E., Menzel, R., Fietz, A., et S. Schäfer. 1983. Classical conditioning proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). J. Comp. Psychol. 97:107-119.
- Decourtye, A., Lacassie, E., et M.H. Pham-Delègue. 2002. Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. Pest Management Science, accepté.
- Florelli, F., Garnier, P., et L. Roa. 1987. Bilan de 8 années d'expérimentation sur la sélectivité du Décis vis-à-vis des abeilles. La Défense des Végétaux :65-73.
- Mamood, A.N., et G.D. Waller. 1990. Recovery of learning responses by honeybees following a sublethal exposure to permethrin. Physiol. Entomol. 15:55-60.
- Pham, M.H., et C. Masson. 1985. Analyse par conditionnement associatif du mécanisme de la reconnaissance de sources alimentaires par l'abeille. B. Soc. Entomol. Fr. 90:1216-1223.

Stone, J.C., Abramson, C.I., et J.M. Price. 1997. Task-dependent effects of Dicofol (Kelthane) on learning in the honey bee (*Apis mellifera*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58:177-183.

Taylor, K.S., Waller, G.D., et L.A. Crowder. 1987. Impairment of classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. Apidologie 18:243-252.

Vandame, R., Meled, M., Colin, M.E., et L.P. Belzunces. 1995. Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of Deltamethrin. Environmental Toxicology and Chemistry 14:855-860.