

COMPARAISON DE LA TOXICITE AIGUË DE DEUX MODES D'INGESTION D'INSECTICIDES : INGESTION COLLECTIVE ET INDIVIDUELLE CHEZ *APIS MELLIFERA*

H. Rafalimanana, M.-H. Pham-Delègue

Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette, France

RESUME

La méthode de la Commission des Essais Biologiques, C.E.B. n° 95, dite standard, en particulier la toxicité aiguë par ingestion, est loin d'être totalement fiable du fait de la grande variabilité des valeurs de DL50. Pour pouvoir apporter une information supplémentaire sur la variabilité de sensibilité de *Apis mellifera*, nous avons comparé en laboratoire la toxicité par ingestions collective et individuelle en se basant sur la méthode C.E.B. n°95. Nous avons testé la deltaméthrine et le chlorpyrifos éthyle ainsi que le diméthoate utilisé comme référence toxique. Les insecticides ingérés par les abeilles ne se comportent pas de la même manière en fonction du mode d'ingestion et du produit. Le chlorpyrifos éthyle et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique en ingestion collective qu'en ingestion individuelle. Le diméthoate à dose forte n'entraîne pas une différence de toxicité en ingestions collective et individuelle. Et on ne peut pas conclure sur la toxicité de deltaméthrine qui varie en fonction du mode d'ingestion. La valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille n'est pas une valeur totalement fiable de la toxicité. Mais, on peut dire que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits.

INTRODUCTION

Une standardisation des méthodes d'évaluation de la mortalité des insectes auxiliaires causée par des produits phytosanitaires fait l'objet d'études en France (Commission des Essais Biologiques, (1996) ; Action de Coordination des Techniques Agricoles, Reboulet, 1994) ; et en Europe. Or, la méthode de la Commission des Essais Biologiques, CEB n° 95, dite standard, en particulier la toxicité aiguë par ingestion en laboratoire, n'est pas fiable du fait de la grande variabilité de DL50 de la deltaméthrine (4 à 67 ng/abeille) (Faucon, 1985 ; Atkins *et al.*, 1981 ; Stevenson, 1968). Et les résultats par ingestion collective que nous avons obtenu sur les deux années successives confirment encore cette variabilité pour la deltaméthrine (455,06 < 621,81 < 749,32 ng/abeille en 2000 et 264,34 < 401,65 < 542,39 ng/abeille en 2001). La comparaison des DL50 obtenues en ingestion collective et ingestion individuelle permet d'apporter une information supplémentaire sur la variabilité de la sensibilité de l'abeille.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Nous avons testé les abeilles d'âge indéterminé prélevées dans la ruche sur des cadres de réserves, qui n'ont pas de symptômes pathologiques et ne sont pas traitées par des acaricides. Le prélèvement se fait la veille du test.

Nous avons comparé deux neurotoxiques : la deltaméthrine (pyrethrianoïde) qui perturbe la transmission de l'influx nerveux en agissant sur le canal sodium (Soderlund & Bloomquist, 1989 ; Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979) et le chlorpyrifos éthyle (organophosphoré) et le produit de référence toxique, le diméthoate (organophosphoré), qui inhibent l'action de l'acétylcholinestérase (Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979). Nous avons utilisé le produit technique à 99% de matière active chez Cluzeau Infolabo (Sainte-Foy-La-Grande, France).

Ces insecticides protègent les cultures contre l'attaque de nombreux ravageurs (Lépidoptères, Homoptères, Coléoptères).

On dissout la matière active dans de l'acétone dont la concentration dans le sirop de traitement est de 10%.

Dispositif expérimental

Nous avons appliqué la méthode C.E.B. n°95. L'unité expérimentale est la cagette de 20 abeilles. Chaque test comprend : le lot témoin, les lots traités comprenant cinq doses croissantes de matière active testée, les lots traités avec le diméthoate aux doses forte et faible. Chaque lot comprend trois cagettes. Le test est répété trois fois.

Pour les deux groupes d'ingestion, on soumet les abeilles à un jeûne de deux heures dans une enceinte climatisée, à une température de 25 ± 2 °C et dans l'obscurité. Pendant le test, les abeilles sont placées à la lumière, à une température de 25 ± 2 °C. Pour l'ingestion collective, chaque lot est nourri avec 200 µl d'une solution de saccharose à 500 g/l contenant le produit à différentes doses. Pour l'ingestion individuelle, chaque abeille est nourrie de 10 µl de sirop contaminé pendant une heure. Les individus ayant consommés la totalité du volume administré, sont regroupés dans leur cage d'origine. Les abeilles dans les deux groupes de tests sont alimentées avec du sirop de saccharose non contaminé et sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée.

On enregistre les mortalités 24 et 48 heures après traitement, les données obtenues sont traitées statistiquement par le logiciel WinDL, qui analyse l'effet de concentrations croissantes d'une molécule d'insecticide sur le taux de mortalité de lots d'insectes (relation dose- effet) (CIRAD, 1998). La mortalité obtenue en fonction de la dose d'insecticide est représentée graphiquement avec une échelle logarithmique pour les abscisses et une échelle probit pour les ordonnées.

Pour que le test soit valide, la mortalité dans les lots témoins doit être inférieure ou égale à 10 % et les pourcentages de mortalité avec le diméthoate doivent être proches ou supérieurs à 50%. Et la DL50 calculée doit être comprise entre les deux doses extrêmes testées.

RESULTATS

Les résultats de la comparaison de la toxicité par ingestion collective et individuelle, nous montrent que les insecticides ne se comportent pas de la même manière, les effets toxiques varient en fonction du mode d'ingestion et de la matière active.

Les doses de chlorpyrifos éthyle testées entraînent très peu de mortalité et les données obtenues avec deltaméthrine qui sont hétérogènes n'ont pas permis de valider les DL50 trouvées. La valeur de DL50 du chlorpyrifos en ingestion collective est comparable à celle de la littérature mais la DL50 de la deltaméthrine est six à dix fois moins toxique que la valeur de DL50 de la littérature (Tableau 1).

Par contre, il n'y a pas de différence de toxicité en ingestion individuelle et collective à dose forte de diméthoate. Mais, la dose faible de diméthoate entraîne plus de mortalité en ingestion collective qu'en ingestion individuelle (Tableau 2).

Insecticides	Mode d'ingest	Littérature (ng/ab)	Gamme de doses (ng/ab)	r	Nb d/répétitions et doses	Lim inf.<DL50 <Lim sup (ng/abeille)	
						24 h	48 h
Chlorpyrifos éthyle	Indiv	250	83,87- 205,00	1,25	5 doses répétition	Peu de mortalité	
	Collect					153,08< 164,05 <173,35	153,30< 164,34 < 73,77
Deltaméthrine	Indiv	4-67	294,44- 1490,62	1,5	5 doses répétition	11,16<311,19<663,59	25,98<295,97<579,22
	Collect					264,34< 401,65 <542,39	289,80< 364,18 <428,48
						valable	valable

Tableau 1 : DL50 de la deltaméthrine et du chlorpyrifos éthyle en ingestion individuelle et collective (r : raison géométrique : facteur multiplicatif entre les doses)

Diméthoate	Mode d'ingest	Littérature	Dose $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	n	Effet du au traitement 24 h après ingestion			Effet du au traitement 48 h après ingestion		
					Taux de mortalité 24h	ddl	p (Chi)	Taux de mortalité 24h	ddl	p (Chi)
Forte	Indiv	C.E.B. n°95	3,5	21	87,31 \pm 5,67	39	0,63	83,57 \pm 5,72	39	0,63
	Collect			21	82,62 \pm 3,96			82,62 \pm 3,96		
Faible	Indiv		1	21	44,29 \pm 6,44	39	0,0065	45,71 \pm 6,12	39	0,0018
	Collect				21			31,67 \pm 4,52		

Tableau 2 : Comparaison des pourcentages de mortalité entre ingestion individuelle et collective de diméthoate

DISCUSSION

Le chlorpyrifos éthyle et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique 24 et 48 heures après une ingestion collective qu'après une ingestion individuelle. Et à dose forte de diméthoate, la matière active se comporte de la même manière par ingestion collective et par ingestion individuelle. Et, on ne peut pas conclure sur l'effet de la deltaméthrine selon le mode d'ingestion.

De plus, on ne peut pas déterminer les DL50 de la deltaméthrine et du chlorpyrifos éthyle administrés par ingestion individuelle.

La valeur de DL50 du chlorpyrifos par ingestion collective est comparable à celle de la littérature mais la DL50 de la deltaméthrine est six fois moins toxique que la valeur de DL50 de la littérature.

Les variabilités observées en fonction du mode d'ingestion ou de la matière active peuvent s'expliquer par la variabilité de la quantité reçue par abeille par ingestion collective en raison du phénomène de trophallaxie. Cette différence proviendrait d'une compétition de prise de nourriture ingérée par quelques abeilles au détriment des autres, quand elles sont en groupe. Et du fait des échanges aléatoires de nourriture entre individus, les abeilles ne reçoivent probablement pas la même quantité de molécule toxique (Van Buren *et al.*, 1993). De plus, on n'arrive pas à contrôler la quantité reçue par abeille en ingestion collective lors de la détermination de la DL50. Decourtye (2002) a montré que l'administration individuelle d'imidaclopride (néonicotinoïde) induit une dose létale inférieure à celle obtenue par ingestion collective. Nous n'avons pu confirmer cette différence pour les molécules que nous avons testées. Une variabilité dans le phénomène de trophallaxie peut interférer sur la répartition homogène d'insecticide en fonction de la taille du lot considéré, ce qui entraîne une estimation imprécise de la DL50.

CONCLUSION

La valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille est difficilement interprétable. Cependant, on peut dire que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits. La détermination de la dose létale par ingestion chez l'abeille est rendue complexe du fait de la variabilité du phénomène de trophallaxie nécessitant une étude plus approfondie, ce qui permettrait d'améliorer l'estimation de la toxicité de pesticides par la méthode C.E.B. n°95 en ingestion.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de cette étude L. Kaiser, pour son co- encadrement scientifique au laboratoire, A. Decourtye, pour ses conseils lors des différentes manipulations, M. Charreton qui m'a aidé pour prélever les abeilles. Ce

travail est réalisé dans le cadre d'une Thèse financée par une bourse de coopération Franco-Malgache.

RÉFÉRENCES

- Atkins E.L., Kellum D., Atkins K.W., 1981. Reducing pesticides hazards to honey bees : Mortality Prediction Techniques and Integrated Management Strategies. Univ. Calif. Div. Agri. Sci. Leaf. 2883.
- Cluzeau, S. & Paternelle, M.C., 2000. Index phytosanitaire. 36ème édition. Association de Coordination Technique Agricole. 73 ; 78-79 ; 117 .
- Commission des Essais Biologiques (C.E.B.), 1996. Méthode de laboratoire d'évaluation de la toxicité aiguë orale et de contact des produits phytopharmaceutiques chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Methode n°95. Association Nationale de Protection des plantes. 8p.
- Decourtye A., 2002. Etude de l'impact de produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse de Docteur en Sciences de l'université Paris XI Orsay. 137p.
- Faucon J.P., Flamini C., Colin M.E., 1985. Evaluation de l'incidence de la deltaméthrine sur les problèmes de cheptel apicole. Ere partie : Etude de la toxicité aiguë. Appréciation de la validité des méthodes de dosage des résidus de la deltaméthrine. Bull. Lab. Vet. 17. 49-65.
- Finney D.J., 1971. Probit analysis, 3rd edition. Cambridge. University Press. (U.K.). 27p.
- Reboulet J.N., 1994. Impact des produits phytosanitaires sur la faune auxiliaire. Méthodologie d'expérimentation en vergers. ACTA-POINT 1, Paris ; 45 p.
- Soderlund D.M., Hessney C.W. & Helmuth D.W., 1983. Pharmacokinetics of cis- and trans substituted pyrethrinoids in the american coackroach. Prog. Pestic. Biochem. Toxicol. 20. 161-168.
- Stevenson, J.H., 1968. Laboratory studies on the acute contact and oral toxicities of insecticides to honey bees. Annals of Applied biology. 61. 467-472
- Van Buren N.W.M., Mariën A.G.H., Velthuis H.H.W., 1993. The effectiveness of systemic agents used to control the mite, *Varroa jacobsoni*, in colonies of the honey bee, *Apis mellifera* depends on food distribution patterns. Apidologie. 24. 33- 43.
- Worthing, C.R., 1979. The pesticide manual. A world compendium. 6th edition. British crop Protection Council. 119 ; 137 ; 432.