

## EFFETS DE DOSES SUBLETALES DE PESTICIDES SUR LE COMPORTEMENT DE L'ABEILLE DOMESTIQUE *APIS MELLIFERA* L.

DECOURTYE A.<sup>1</sup>, LE METAYER M.<sup>1</sup>, RENOU M.<sup>2</sup>, PHAM-DELÈGUE M.H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés, INRA, BP 23, 91440 Bures-sur-Yvette, France

<sup>2</sup>Laboratoire des Médiateurs Chimiques, INRA, Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles, France

**Résumé:** Le but de ce travail est d'étudier en laboratoire les effets de doses sublétales de deux insecticides utilisés sur des cultures mellifères en cours de floraison (0,13, 0,25 et 1,3 ng/abeille d'imidaclopride ; 0,05, 0,1 et 0,5 ng/abeille d'endosulfan) sur le comportement des abeilles butineuses. A l'échelle de l'individu, les capacités d'apprentissage olfactif des abeilles impliquées dans le comportement de butinage ont été évaluées grâce à une procédure de conditionnement olfactif. Les modifications concomitantes de la sensibilité olfactive périphérique évaluées par électroantennographie, ont été étudiées. L'administration sub-chronique d'imidaclopride et d'endosulfan diminue les performances d'apprentissage olfactif des abeilles traitées. Après traitement avec l'endosulfan, la diminution de la sensibilité olfactive de l'antenne peut être un facteur expliquant les faibles performances d'apprentissage. Parallèlement, le processus collectif d'exploitation d'une ressource alimentaire contaminée par l'imidaclopride a été évalué par l'analyse du comportement de butinage d'une colonie maintenue en cage de vol. L'ingestion prolongée d'imidaclopride diminue les capacités de discrimination des butineuses entre différentes sources odorantes. Ainsi, les effets sublétaux observés à l'échelle de l'individu se confirment à l'échelle de la colonie. Ces essais biologiques pourraient être utilisés pour l'évaluation des effets sublétaux de pesticides sur l'abeille.

**Mots-clés:** abeille domestique, pesticides, effets sublétaux, comportement, apprentissage.

**Abstract:** Effect of sublethal doses of pesticides on the honey bee behaviour.

The aim of this work was to evaluate under laboratory conditions the effects of sublethal doses of two insecticides potentially used on flowering melliferous crops (0.13, 0.25 and 1.3 ng/bee of imidacloprid; 0.05, 0.1 and 0.5 ng/bee of endosulfan) on the behaviour of honeybees. At the individual level, we studied the olfactory learning performances involved in the foraging behaviour using an olfactory conditioning procedure. Electroantennogram recordings (EAG) were used to investigate the concomitant changes in the olfactory sensitivity. We showed that honey bees surviving the sub-chronic treatment of imidacloprid and endosulfan had reduced olfactory learning performances. Considering the EAG data, we may assume that the decrease in antennal sensitivity after endosulfan treatment may be involved in the decrease of learning performances. In parallel, at the colony level, a sugar solution containing 50 ppb imidacloprid was fed to a colony in a flight room to determine the effect on the foraging behaviour. The administration of imidacloprid induced a decrease in the discrimination performances between differently scented sources by the foragers. Thus, the behavioural effects of pesticides found at the individual level were consistently with those showed at a colony level. These assays may be suitable for use in the sublethal hazard evaluation of pesticides in honey bee.

**Key words :** honey bee, pesticides, sublethal effects, behaviour, learning

### INTRODUCTION

L'importance des produits phytosanitaires dans les agrosystèmes n'est pas toujours compatible avec le rôle économique et écologique de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). En effet, les traitements appliqués sur des cultures mellifères en cours de floraison peuvent affecter la survie ou le comportement des abeilles. Contrairement aux effets létaux, qui font l'objet de tests toxicologiques avant la mise sur le marché des produits (Atkins et coll., 1981), il n'existe pas actuellement de moyens objectifs permettant de

décélérer les effets sublétaux des pesticides sur le comportement de l'abeille. Néanmoins, les effets comportementaux de certains insecticides sur les abeilles sont connus : des doses sublétales de parathion affectent le recrutement des butineuses en perturbant les paramètres de la danse oscillante (Schricker & Stephen 1970). Des doses sublétales de perméthrine et de deltaméthrine perturbent les capacités d'orientation des butineuses (Vandame et coll., 1995). Ces quelques travaux ont cherché à évaluer les effets d'insecticides à l'échelle de la colonie d'abeilles, en restant proches des conditions naturelles. Toutefois la standardisation de ce type d'expérimentations reste difficile. Il nous a paru intéressant d'utiliser des procédures expérimentales en conditions contrôlées et d'en évaluer la validité en conditions semi-naturelles. L'objectif de notre étude est de déterminer si les procédures expérimentales à notre disposition permettent de mettre en évidence les effets de deux insecticides (imidaclopride et endosulfan) sur le comportement de l'abeille.

L'imidaclopride a été introduit sur le marché sous l'appellation commerciale Confidor®, pour les applications sur les feuilles ou sur le sol, et Gaucho® pour le traitement des semences. Il possède de grandes propriétés systémiques et offre une longue protection des cultures, principalement contre les insectes suceurs de sève tels que les cicadelles, les pucerons et les thrips sur lesquels il agit par ingestion ou par contact (Elbert et coll., 1991). En tant qu'insecticide appartenant à la catégorie des dérivés du nitrométhylène, la cible biochimique de l'imidaclopride est le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (Buckingham et coll., 1997). Les tests de toxicité aiguë ont permis de classer l'imidaclopride comme très toxique pour les abeilles (Drescher, 1990). Néanmoins la technique d'enrobage des semences par Gaucho® exclurait un effet néfaste direct sur les abeilles (Pflüger & Schmuck, 1991), par exemple pendant le comportement de butinage. L'endosulfan est voisin du groupe des organo-halogénés. Il agit comme antagoniste des récepteurs du GABA ( $\beta$ -aminobutyric acid), après ingestion ou contact. Il est employé contre de nombreux ravageurs de cultures céréalières, légumières, fruitières ou ornementales. Il est classé comme moyennement dangereux pour les abeilles (Atkins et coll., 1981). Son emploi est ainsi autorisé pendant la floraison des plantes mellifères ou au cours des périodes d'exsudation du miellat sur les céréales.

Sachant que le comportement de butinage repose sur la mise en jeu de capacités d'apprentissage de signaux principalement chimiques (Menzel et coll., 1993), nous avons utilisé une procédure expérimentale permettant d'analyser les performances d'apprentissage, le conditionnement de l'extension du proboscis chez des abeilles en contention (Bitterman et coll., 1983). L'enregistrement d'électroantennogrammes (EAG) (Pham-Delègue et coll., 1993) peut permettre d'évaluer, de façon complémentaire, les effets sur la sensibilité olfactive des abeilles soumises à un traitement insecticide. De plus, le processus collectif d'exploitation d'une ressource alimentaire contaminée à l'imidaclopride a été étudié par l'analyse du comportement de butinage d'une colonie maintenue en cage de vol. Cette étude visait à évaluer l'impact de la consommation d'imidaclopride sur les capacités de discrimination olfactive des abeilles en vol libre.

## MATERIEL ET METHODES

### 1. Effets sublétaux de l'imidaclopride et de l'endosulfan sur les performances d'apprentissage olfactif chez des ouvrières maintenues en contention.

#### *Matériel biologique*

Les prélèvements des ouvrières émergentes ont été réalisés du 10 mars au 31 mars. Elles ont été maintenues en étuve (33 °C, 55 % HR) par lot de 50 dans des cages d'élevage en carton, approvisionnées *ad libitum* en sucre, en eau pendant les trois premiers jours et en pollen pendant les huit premiers jours. Au bout de trois jours, le sucre et l'eau ont été remplacés par une solution sucrée de saccharose 50 % (masse), contaminée ou non contaminée avec un produit agrochimique, contenue dans deux abreuvoirs de 2 ml (tubes Eppendorf). Chaque jour, la consommation en sirop a été relevée (précision de 0,5 ml) et la mortalité a été comptabilisée. Les abeilles testées grâce à la procédure de conditionnement ont été prélevées parmi les abeilles ayant survécu à l'exposition aux produits. Ainsi, les lots d'abeilles testées sont constitués de 20 à 25 individus âgés de 15 jours.

### Modalités de traitement

L'administration par ingestion a été assurée durant 11 jours grâce à la contamination de la solution sucrée. Les abreuvoirs contenant le sirop alimentaire contaminé sont remplacés tous les jours afin que les abeilles reçoivent quotidiennement la dose voulue. L'administration par contact a été réalisée le jour de la mise en cage d'élevage des abeilles en imbibant le papier du sol des cages par 1 ml d'eau distillée contaminée. Les ouvrières se sont déplacées sur le substrat contaminé pendant 13 jours. Les abeilles témoins ont été placées par groupe de 50 individus dans une cage d'élevage ayant le papier du sol imbibé de 1 ml d'eau distillée et nourries avec du sirop non contaminé pendant 11 jours. Nous avons choisi des doses expérimentales sur la base de tests de toxicité aiguë au cours desquels les DL50 (Dose Létale tuant 50 % des effectifs en 24 h) ont été déterminées (endosulfan : Stevenson, 1978 ; imidaclopride : Drescher, 1990). Les 3 doses testées ont été choisies arbitrairement en-dessous des DL50 (Tableau 1). Nous nous intéresserons ici uniquement aux résultats après administration d'imidaclopride par ingestion et d'endosulfan par contact car l'administration d'imidaclopride par contact (10, 5 et 2,5 ng/abeille) n'a pas induit de performances d'apprentissage significativement différentes de celles des témoins ( $H = 2,06$  ; 3 ddl ;  $P > 0,05$ ).

Produit technique	Mode d'administration	DL 50	Doses testées	Concentrations testées
Imidaclopride	Ingestion	3,7 ng/abeille	1,3 ng/abeille (DL50/3)	40 ppb
			0,25 ng/abeille (DL50/15)	8 ppb
			0,13 ng/abeille (DL50/30)	4 ppb
Endosulfan	Contact	7,81 µg/abeille	0,5 µg/abeille (DL50/14)	25 ppm
			0,1 µg/abeille (DL50/70)	5 ppm
			0,05 µg/abeille (DL50/140)	2,5 ppm

**Tableau 1.** Doses et concentrations d'insecticides testées.

**Table 1.** Insecticide doses and concentrations.

### 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 de saccharose 30 % (masse) sur les antennes, les pièces buccales ou les tarsi. Lorsque cette stimulation (Stimulus Inconditionnel = SI) est associée à la présence d'un stimulus olfactif (Stimulus Conditionnel = SC) 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 = RC), cela grâce à un conditionnement associatif de type pavlovien (Bitterman et coll., 1983). Le nombre de Réponses Conditionnées d'un insecte est le paramètre mesuré révélant ses capacités d'apprentissage olfactif. Les abeilles subissent un jeûne de 4 heures avant d'être soumises à une phase de conditionnement puis à une phase de test. L'ensemble des stimulations, SC/SI-R, correspond à un essai de conditionnement. Chaque abeille subit 3 essais de conditionnements (C1, C2, C3) espacés de 15 à 20 minutes. Cette phase permet d'évaluer un éventuel effet du traitement sur l'acquisition des réponses. Lors de la phase de test, une abeille est soumise à 5 tests (T1 à T5) espacés de 15 à 20 minutes. Un test correspond à l'application de l'odeur seule (SC) pendant 6 secondes. Cette phase permet d'évaluer un éventuel effet du traitement sur l'extinction des réponses. Nous avons utilisé comme odeur le linalol pur (95 à 97 % de pureté ; Sigma). C'est un composé floral volatil, il appartient ainsi à l'environnement olfactif naturel de l'abeille. Nous savons également que ce produit induit un conditionnement efficace dans cette procédure expérimentale (Sandoz et coll., 1995).

## 2. Effets sublétaux de l'endosulfan sur la sensibilité olfactive antennaire.

### Matériel biologique

La mise en cage d'élevage des abeilles, la méthode d'administration du produit par contact et les conditions d'élevage sont identiques à celles de l'expérimentation précédente. Le prélèvement des ouvrières sur un cadre de couvain s'est déroulé du 21 au 28 février.

### Modalités de traitement

Le choix du traitement a été fait à la suite des résultats de la procédure de conditionnement de type pavlovien. L'administration de l'endosulfan à la concentration de 25 ppm a été retenue. La durée d'intoxication est de  $15 \pm 1$  jours. Les 10 abeilles de chaque lot expérimental sont âgées de  $17 \pm 1$  jours.

#### *Procédure d'électroantennographie*

Nous avons analysé la sensibilité antennaire au linalol par l'enregistrement d'électroantennogrammes (EAG) d'ouvrières intoxiquées en comparaison d'individus témoins non traités de même âge. Dans le but d'établir des courbes dose-réponse, les trois doses de linalol choisies sont 0,86, 8,6 et 86 µg. Ce produit est dilué dans l'hexane (n-hexane à moins de 0,01 % d'eau ; Prolabo) au centième, au millième et au dix-millième. Des stimulations à l'hexane pur constituent un contrôle. Chaque individu est soumis à huit stimulations dont l'ordre est le suivant : hexane, 1/100 de linalol, 1/100 de linalol, 1/1000 de linalol, 1/1000 de linalol, 1/10000 de linalol, 1/10000 de linalol, hexane.

### **3. Effets sublétaux de l'imidaclopride sur les performances d'apprentissage olfactif chez des abeilles en vol libre.**

#### *Matériel biologique*

Les expérimentations se sont déroulées de juin à août 1998. Une colonie d'environ 4000 abeilles hybrides (*Apis mellifera ligustica x caucasica x mellifera*) a été introduite dans une cage de vol extérieure de 2 m x 2 m x 2 m. Ces abeilles hybrides présentent une forte activité de butinage en conditions naturelles (Fresnaye et coll., 1974) et de grandes facultés d'adaptation à l'élevage en cage de vol (Pham-Delègue et coll., 1984).

#### *Modalités de traitement*

L'imidaclopride a été administré par ingestion pendant 13 jours grâce à la contamination d'une solution de saccharose 50 % (masse) à la concentration de 50 ppb.

#### *Procédure de conditionnement olfactif et de tests de discrimination olfactive*

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 & Masson, 1985). Ce dispositif est constitué d'un plateau présentant 6 fleurs artificielles, régulièrement distribuées à la périphérie du dispositif. Chaque fleur distribue une solution sucrée de saccharose 50 % et diffuse une odeur (linalol pur). Ainsi, pendant chaque prise de nourriture, l'abeille est également soumise à une stimulation olfactive. Après un certain nombre d'association odeur-nourriture, l'abeille identifie l'odeur délivrée par le plateau comme un signal alimentaire. Il s'agit donc d'un conditionnement classique de type pavlovien. La phase de test consiste à introduire dans la cage de vol un dispositif d'aspect identique, mais n'étant pas approvisionné en saccharose, et ne diffusant du linalol que dans une fleur sur deux. Nous dénombrons alors les abeilles présentes sur les sites avec et sans odeur. Nous avons alterné les phases de conditionnement et les phases de tests afin de maintenir le conditionnement des butineuses. Au total, le dispositif a été introduit dans la cage de vol durant environ 2 h par jour. La séquence expérimentale, phase de conditionnement / phase de test, a été réalisée lors de 3 périodes : 15 jours avec une récompense alimentaire non contaminée (saccharose 50 %) ; 13 jours avec une récompense alimentaire contaminée avec 50 ppb d'imidaclopride ; 7 jours avec de nouveau une récompense alimentaire non contaminée.

#### *Enregistrement de l'activité de la colonie*

L'utilisation d'un compteur d'abeilles (Beescan ; Lowland Electronics), qui dénombre les entrées et les sorties des abeilles, nous a permis d'étudier l'activité de la colonie. Il s'agit d'un boîtier se fixant à l'entrée de la ruche à la place de la planche d'envol. Il est équipé d'une série de 32 passages permettant la circulation des abeilles. Chaque passage est traversé par un rayon infrarouge se projetant sur 2 récepteurs. Lors du passage d'une abeille, le rayon infrarouge est coupé. Ce système de détection est couplé à un système informatique qui récolte et gère les données en fichier. Le compteur crée un fichier de données par jour de comptage. Nous avons programmé le compteur afin d'obtenir un enregistrement des entrées-sorties toutes les 5 minutes et cela durant les 5 semaines d'expérimentation.

### **4. Traitement des données.**

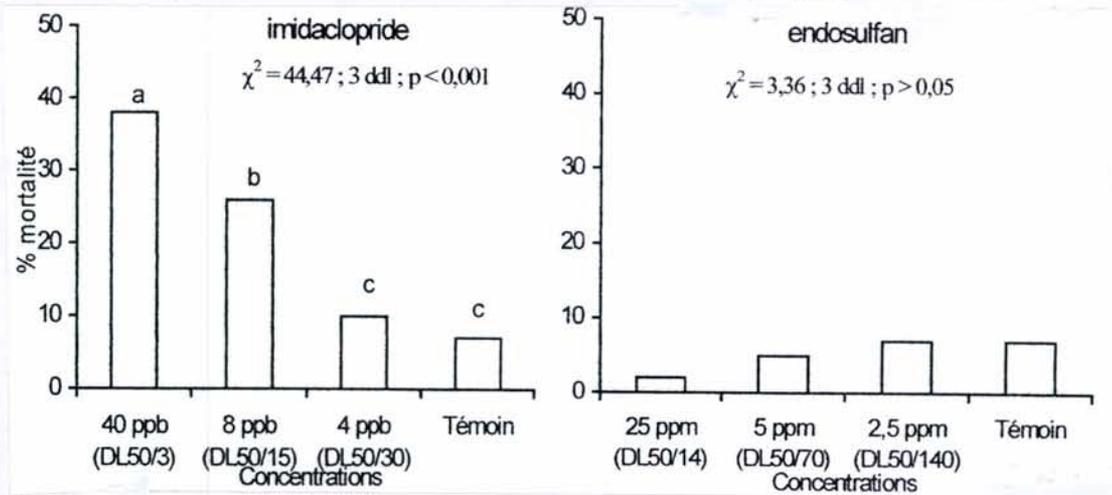
Les performances d'apprentissage obtenues pour les différents traitements lors de la procédure de conditionnement de type pavlovien ont été comparées entre elles par un test de Kruskal-Wallis à 3 ddl (test non paramétrique sur les rangs). Dans le cas où une hétérogénéité est apparue, un test de comparaisons multiples est appliqué, après correction du seuil de signification selon la méthode de Noether. Le taux de mortalité obtenus pour les différents traitements ont été analysés par des tests de Chi<sup>2</sup> à 3 ddl. Dans le cas où une hétérogénéité est apparue, des tests de comparaisons multiples ont été appliqués avec un seuil de signification corrigé selon la méthode de Dunn-Sidak. Les courbes dose-réponse EAG entre les individus traités et non traités ont été comparées par une analyse de variance à deux critères de classification (Anova à deux facteurs).

## RESULTATS

### 1. Effets sublétaux de l'imidaclopride et de l'endosulfan sur les performances d'apprentissage olfactif chez des ouvrières maintenues en contention.

#### Mortalité

Contrairement aux doses supérieures, l'ingestion quotidienne durant 11 jours d'imidaclopride à la concentration de 4 ppb (DL50/30) induit un taux de mortalité non significativement différent de ceux des Témoins. L'administration par contact de l'endosulfan aux concentrations comprises entre 2,5 et 25 ppm (DL50/160 à DL50/16) n'a pas d'effet significatif sur le taux de mortalité des abeilles (Fig. 1).

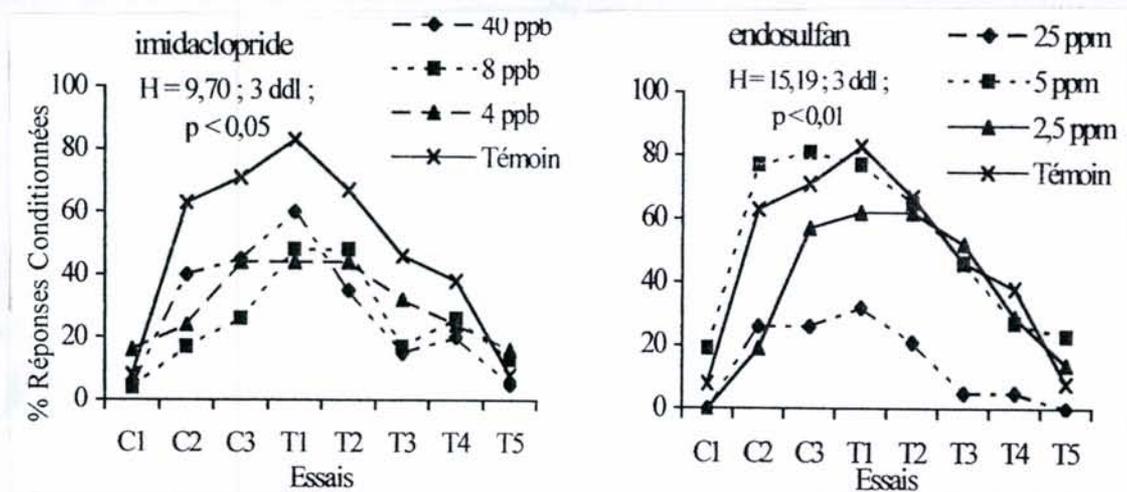


**Figure 1.** Taux de mortalité après administration par ingestion d'imidaclopride et administration par contact d'endosulfan (Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les groupes ;  $P < 0,05$ ).

Mortality level after oral treatment with imidacloprid and contact treatment with endosulfan (group with different letters are significantly different;  $P < 0.05$ ).

#### Performances d'apprentissage

L'administration par ingestion de faibles quantités d'imidaclopride, mais de façon continue, induit des effets significatifs sur le taux de réponses conditionnées des abeilles (Fig. 2).



**Figure 2.** Performances d'apprentissage après administration par ingestion d'imidaclopride et administration par contact d'endosulfan (Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les groupes ;  $P < 0,05$ ).

Learning performances after oral treatment with imidacloprid and contact treatment with endosulfan (group with different letters are significantly different;  $P < 0.05$ ).

Nous n'observons pas de hiérarchie des niveaux de performances obtenus aux différentes doses d'imidaclopride testées. L'administration par contact de l'endosulfan à la concentration de 25 ppm (DL50/16) a un effet extrêmement néfaste sur le taux de réponses conditionnées. Les abeilles traitées à cette dose ont un très faible niveau de conditionnement.

## 2. Effets sublétaux de l'endosulfan sur la sensibilité olfactive antennaire.

L'administration par contact de l'endosulfan à la concentration de 25 ppm (DL50/16) diminue l'amplitude des réponses antennaires de façon significative. L'intoxication des abeilles diminue l'amplitude des réponses à l'hexane de 73 % et l'amplitude des réponses à 1/100 de linalol de 50 %. Les réponses à l'hexane étant abaissées, la diminution des EAG ne semble pas spécifique du linalol (Fig. 3).

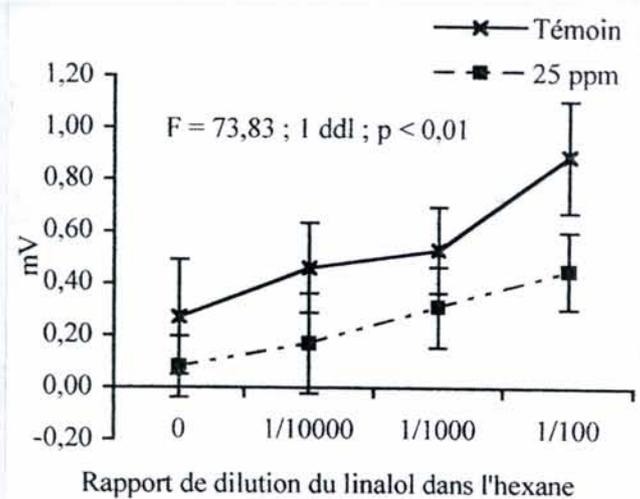


Figure 3. Réponses EAG au linalol après administration par contact de d'endosulfan. EAG responses to linalol after contact treatment with endosulfan.

## 3. Effets sublétaux de l'imidaclopride sur les performances d'apprentissage olfactif chez des abeilles en vol libre.

### Tests de discrimination olfactive

Le niveau de discrimination olfactive avant l'introduction d'imidaclopride est élevé, proche de 90 % (Fig. 4). Pendant l'administration orale d'imidaclopride, les niveaux de

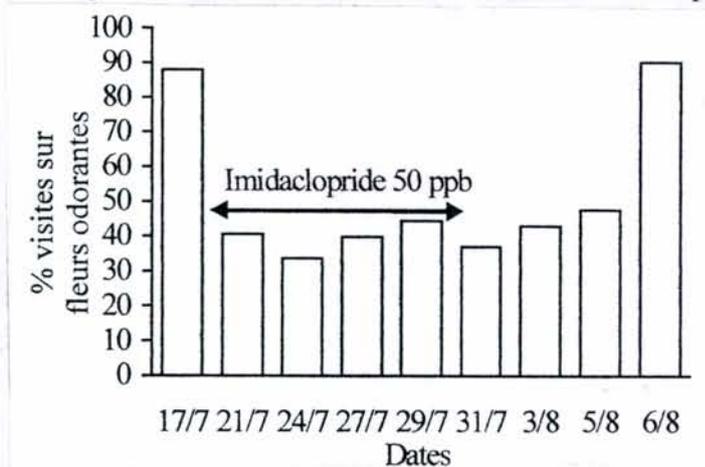
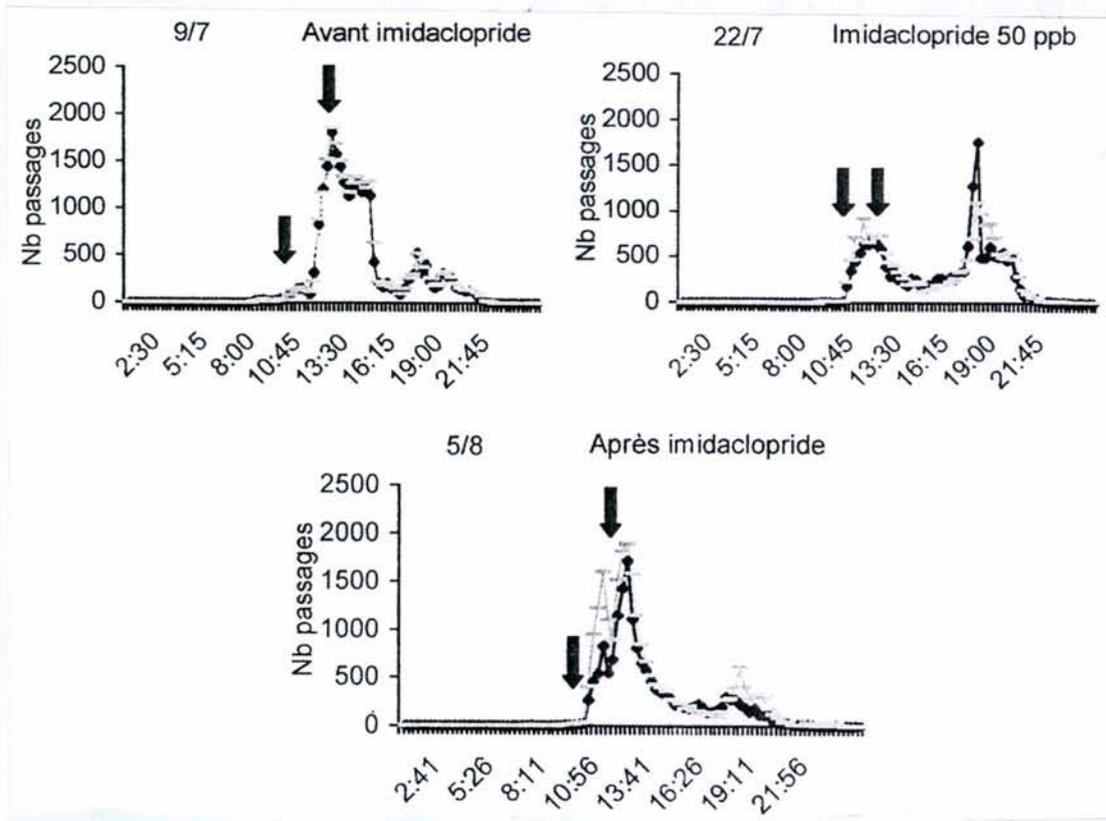


Figure 4. Performances de discrimination olfactive en cage de vol avec ou sans administration d'imidaclopride. Olfactory discrimination performances in a flight cage with or without imidacloprid treatment.

performances sont compris entre 35 et 45 %. Il est à noter que le niveau correspondant à 50 % de visites sur les fleurs diffusant du linalol, révèle un choix aléatoire des butineuses entre les fleurs odorantes et celles inodores. Après le retrait de l'imidaclopride, le pourcentage de visites sur les fleurs odorantes est de nouveau proche de 90 % des visites totales. Le niveau de discrimination est alors redevenu identique au niveau initial.

#### Activité de la colonie

Avant l'administration d'imidaclopride, nous observons une augmentation de l'activité (nombre des entrées et de sorties) qui coïncident avec la mise en place du dispositif des fleurs artificielles dans la cage de vol (Fig. 5). Avec la solution alimentaire contaminée à l'imidaclopride, l'introduction du dispositif induit un niveau d'activité plus faible que précédemment. Un pic d'activité est observée en fin de journée, traduisant probablement un vol sanitaire. Après reprise d'une alimentation non contaminée, le niveau d'activité est équivalent à celui observé avant l'administration de l'imidaclopride.



**Figure 5.** *Activité de la colonie (chaque graphique représente un jour de la période expérimentale). Courbes noire/grise : nombre d'entrées et de sorties. Flèches noires : introduction/retrait du dispositif de la fleur artificielle.*

*Colony activity (each graph illustrates one day of the experimental periods). Black/grey curves : number of entries and exits. Black arrows : introduction/removal of the artificial flower device.*

## DISCUSSION

La procédure de conditionnement olfactif de type pavlovien, nous a permis de démontrer la diminution des performances d'apprentissage olfactif à la suite de l'administration prolongée de doses sublétales d'imidaclopride et d'endosulfan. Ces résultats confirment de précédents travaux démontrant l'intérêt de cette procédure

expérimentale dans le but de dépister les effets amnésiques de certains produits agrochimiques (Taylor et coll., 1987 ; Mamood & Waller, 1990 ; Stone et coll., 1997). Contrairement à l'administration d'endosulfan, nos travaux ne nous ont pas permis de mettre en évidence de relations entre les doses d'imidaclopride et les réponses comportementales, ni de définir précisément la concentration seuil à partir de laquelle l'administration d'imidaclopride n'affecte plus les performances d'apprentissage.

L'administration par contact d'endosulfan à la concentration de 25 ppm (DL50/16) induit une diminution de l'amplitude des EAG au linalol et à l'hexane. En considérant l'absence de récepteurs GABAergiques, la cible biochimique connue de l'endosulfan, au niveau de l'antenne (Bicker, 1993), nous pouvons supposer que la diminution de la sensibilité olfactive de l'antenne est due à un affaiblissement général de l'individu plutôt qu'à un effet spécifique de l'endosulfan sur les mécanismes impliqués dans la formation des EAG. Toutefois, cette diminution de la sensibilité olfactive de l'antenne peut être un facteur expliquant les faibles taux de réponses conditionnées obtenus avec l'approche comportementale.

La diminution des performances d'apprentissage olfactif induit par l'imidaclopride chez des ouvrières maintenues en contention est confirmée au niveau de la population de butineuses maintenue en vol libre. Ainsi, les effets sublétaux observés grâce à la procédure de conditionnement olfactif de type pavlovien semblent pouvoir être extrapolés à des conditions expérimentales qui sont plus proches des conditions naturelles, telles que les expérimentations en cage de vol. Cette caractéristique en ferait un essai biologique particulièrement adapté pour déceler les effets sublétaux des produits phytosanitaires sur l'abeille.

## REFERENCES

- 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. Agric. Sci. Leaflet*. 2883.
- Bicker G., 1993. Chemical architecture of antennal pathways mediating proboscis extension learning in the honeybee. *Apidologie* 24: 235-248.
- Bitterman M.E., Menzel R., Fietz A., Schäfer S., 1983. Classical conditioning of proboscis extension in honey bees (*Apis mellifera*). *J. Comp. Psychol.* 97: 107-119.
- Bomann W., 1989. NTN 33893, Untersuchungen zur akuten oralen Toxizität an Mäusen. *Intern report 18593, Bayer AG, Fachbereich Toxikologie*. 15/12/1989.
- Buckingham S.D., Lapied B., Le Corrionc H., Grolleau F., Satelle D.B., 1997. Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *J. exp. Biol.* 200: 2685-2692.
- Drescher W., 1990. Prüfung auf Bienengefährlichkeit für das Zulassungsverfahren-Laboratoriumsprüfung. *Institut für landwirtschaftliche Zoologie und Bienkunde der Universität Bonn. Report Nr. 900240*. 20/07/1990.
- Elbert A., Becker B., Hartwig J., Erdelen C., 1991. Imidacloprid - a new systemic insecticide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 44: 113-136.
- Fresnaye J., Lavie P., Boesiger E., 1974. La variabilité de la production du miel chez l'abeille de race noire (*Apis mellifica* L.) et chez quelques hybrides interraciaux. *Apidologie* 5: 1-20.
- Mamood A.N. et Waller G.D., 1990. Recovery of learning responses by honeybees following a sublethal exposure to permethrin. *Physiol. Entomol.* 15: 55-60.
- Menzel R., Greggers U., Hammer M., 1983. Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the honey bee. In : *Insect learning* (D.R. Papaj and A.C. Lewis, Fischer Eds.) CAB International, Wallingford, 323-353.
- Pflüger W. et Schmuck R., 1991. Ecotoxicological profile of imidacloprid. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 44: 145-158.

- Pham-Delègue M.H., Masson C., Douault Ph., 1984. Etude comparée, effectuée au laboratoire, des aptitudes au butinage d'abeilles de race *A. mellifica ligustica* et d'hybrides interraciaux *A. mellifica (ligustica x caucasica) x mellifica*. *Apidologie* 15: 33-42.
- Pham-Delègue M.H., Masson C., 1985. Analyse par conditionnement associatif du mécanisme de la reconnaissance des sources alimentaires par l'abeille. *Bull. Soc. Entomol. Fr.* 90: 1216-1223.
- Pham-Delègue M.H., Trouiller J., Caillaud C., Roger B., Masson C., 1993. Effect of queen pheromone on worker bees of different ages : behavioural and electrophysiological responses. *Apidologie* 24: 267-281.
- Sandoz J.C., Roger B., Pham-Delègue M.H., 1995. Olfactory learning and memory in the honeybee : comparaison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. *C. R. Acad. Sci. Paris Sciences de la vie* 318: 749-755.
- Schricker B. et Stephen W.P., 1970. The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. Oral administration and the communication dance. *J. Apic. Res.* 9: 141-153.
- Stevenson J.H., 1978. The Acute Toxicity of Unformulated Pesticides to Worker Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Pl. Path.* 27: 38-40.
- Stone J.C., Abramson C.I., Price J.M., 1997. Task-dependant Effects of Dicofol (Kelthane) on Learning in the Honey Bee (*Apis mellifera* L.). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58: 177-183.
- Taylor K.S., Waller G.D., Crowder L.A., 1987. Impairment of the classical conditioned response of the honeybee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. *Apidologie* 18: 243-252.
- Vandame R., Meled M., Colin M.E., Belzunces L.P., 1995. Alteration of the homing-flight in the honeybee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. *Environ. Toxicol. Chem.* 14: 855-860.