ECOLE NATIONALE VETERINAIRE TOULOUSE

ANNEE 2006 THESE : 2006 – TOU 3 – 4057

ABEILLE ET INSECTICIDES PHYTOSANITAIRES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

par

Sylvain, Pierre BOURG
Né, le 16 avril 1982 à ALES (Gard)

Directeur de thèse : Mme le Professeur Martine KOLF-CLAUW

JURY

PRESIDENT :
M. Christian VIRENQUE Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEUR :
Mme Martine KOLF-CLAUW Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
M. Jacques DUCOS de LAHITTE Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	**A. MILON**
Directeurs honoraires	M.	**G. VAN HAVERBEKE**
	M.	**J. FERNEY**
Professeurs honoraires	M.	**L. FALIU**
	M.	**C. LABIE**
	M.	**C. PAVAUX**
	M.	**F. LESCURE**
	M.	**A. RICO**
	M.	**D. GRIESS**
	M.	**A. CAZIEUX**
	Mme	**V. BURGAT**
	M.	**J. CHANTAL**
	M.	**J.-F. GUELFI**
	M.	**M. EECKHOUTTE**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. **BRAUN Jean-Pierre,** *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **DARRE Roland,** *Productions animales*
M. **DORCHIES Philippe,** *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **TOUTAIN Pierre-Louis,** *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1ère CLASSE

M. **AUTEFAGE André,** *Pathologie chirurgicale*
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **DELVERDIER Maxence,** *Anatomie pathologique*
M. **ENJALBERT Francis,** *Alimentation*
M. **EUZEBY Jean,** *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. **FRANC Michel,** *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
M. **MARTINEAU Guy-Pierre,** *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
M. **PETIT Claude,** *Pharmacie et Toxicologie*
M. **REGNIER Alain,** *Physiopathologie oculaire*
M. **SAUTET Jean,** *Anatomie*
M. **SCHELCHER François,** *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2e CLASSE

Mme **BENARD Geneviève,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERTHELOT Xavier,** *Pathologie de la Reproduction*
M. **CONCORDET Didier,** *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
M. **CORPET Denis,** *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
M. **DUCOS Alain,** *Zootechnie*
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques,** *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. **GUERRE Philippe,** *Pharmacie et Toxicologie*
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
M. **LEFEBVRE Hervé,** *Physiologie et Thérapeutique*
M. **LIGNEREUX Yves,** *Anatomie*
M. **PICAVET Dominique,** *Pathologie infectieuse*

INGENIEUR DE RECHERCHES

M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise,** *Professeur d'Anglais*
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves,** *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRE DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. **ASIMUS Erik,** *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERGONIER Dominique,** *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane,** *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine,** *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine,** *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie,** *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain,** *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie,** *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine,** *Dermatologie*
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle,** *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia,** *Pathologie chirurgicale*
Mlle **DIQUELOU Armelle,** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier,** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles,** *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique,** *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc,** *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
Mme **HAGEN-PICARD Nicole,** *Pathologie de la Reproduction*
M. **JACQUIET Philippe,** *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe,** *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi,** *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MARENDA Marc,** *Pathologie de la reproduction*
M. **MATHON Didier,** *Pathologie chirurgicale*
M. **MEYER Gilles,** *Pathologie des ruminants*
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle,** *Alimentation*
M. **MONNEREAU Laurent,** *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie,** *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle,** *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre,** *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine,** *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VERWAERDE Patrick,** *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRE DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle **BIBBAL Delphine,** *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **CASSARD Hervé,** *Pathologie du bétail*
M. **DESMAIZIERES Louis-Marie,** *Clinique équine*
M. **NOUVEL Laurent-Xavier,** *Pathologie de la reproduction*

MAÎTRE DE CONFERENCES ASSOCIE

M. **REYNOLDS Brice,** *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CONCHOU Fabrice,** *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien,** *Pathologie des ruminants*
Mlle **LACROUX Caroline,** *Anatomie pathologique des animaux de rente*
M. **MOGICATO Giovanni,** *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie,** *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Christian VIRENQUE
Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Anesthésiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la Présidence de notre jury,

Hommages respectueux.

A Mme le Professeur Martine KOLF-CLAUW
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pharmacie et Toxicologie

Qui a accepté d'encadrer la réalisation de ce travail,
Pour sa gentillesse et sa constante disponibilité.

Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Jacques DUCOS de LAHITTE
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Parasitologie et maladies parasitaires

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury.

Sincères remerciements.

A M. (et Mme) BARBANÇON
Merci pour votre aide, votre disponibilité, votre accueil chaleureux et votre passion communicative.

~

A mes parents, si tout s'est bien passé c'est bien sûr grâce à votre soutien, votre confiance, votre patience et votre amour.

A mon grand frère, mes grands-parents et toute ma famille, car vous m'avez toujours suivi et accompagné.

A Mélanie, parce qu'à tes côtés les choses sont si simples !

A Christophe (mon second frère), Stéphan (bientôt 20 ans d'amitié), Marjorie (encore plus), les amis d'enfance sur lesquels je peux toujours compter.

A Kara, Davy, Elise, Yannick, Aurélien, Audrey, Minh-Tam, Sydney, David, Guizmo et les autres, qui me font regretter le temps des études.

~

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS 11

INTRODUCTION 13

1. L'ABEILLE ET SON IMPORTANCE 14
1.1. Biologie de l'abeille 14
1.1.1. Systématique 14
1.1.2. Anatomie fonctionnelle et physiologie 15
1.1.2.1. Les appareils circulatoire et respiratoire 16
1.1.2.2. L'appareil digestif et l'alimentation 16
1.1.2.3. Le système glandulaire 18
1.1.2.3.1. Chez l'ouvrière 18
1.1.2.3.2. Chez la reine 19
1.1.2.4. Les organes sensoriels 20
1.1.2.5. La locomotion et l'orientation 21
1.1.2.6. Le système nerveux 22
1.1.2.7. Reproduction et développement 23
1.1.2.7.1. L'accouplement et le vol de fécondation 23
1.1.2.7.2. La ponte et le développement 24
1.1.2.7.3. Le déterminisme des castes 25
1.1.3. La répartition des tâches au sein de la colonie 25
1.1.4. L'organisation du nid 27
1.1.5. La récolte de nourriture par les butineuses 28
1.1.6. La communication par les danses 30
1.1.7. Le cycle de la colonie 31
1.2. L'abeille et la pollinisation 32
1.2.1. Définitions 32
1.2.2. Les vecteurs de pollen 33
1.2.3. Les animaux pollinisateurs 34
1.2.4. La pollinisation des cultures 36

1.2.5. Importance écologique 39
1.3. L'apiculture et les produits de la ruche 39
1.3.1. Les produits de la ruche 39
1.3.2. La filière apicole 40

2. LES INSECTICIDES PHYTOSANITAIRES 42
2.1. Généralités 42
2.2. Le marché des produits phytosanitaires 43
2.3. Formulations 46
2.4. Techniques d'application 47
2.4.1. Le traitement en pulvérisation 47
2.4.2. Le traitement des semences 48
2.5. Les traitements systémiques 49
2.6. Les différentes familles 49
2.6.1. Carbamates 49
2.6.2. Organophosphorés 50
2.6.3. Pyréthroïdes 52
2.6.4. Organochlorés 53
2.6.5. Néonicotinoïdes 54
2.6.6. Phénylpyrazolés 55
2.6.7. Régulateurs de croissance 57

3. TOXICITE ET RISQUE DES INSECTICIDES POUR L'ABEILLE 59
3.1. Etude générale des intoxications d'abeilles 59
3.1.1. Modalités d'exposition 59
3.1.1.1. Pour les adultes 59
3.1.1.2. Pour le couvain 60
3.1.2. Facteurs de risque 61
3.1.3. Expression clinique 64
3.1.4. Diagnostic 66
3.1.5. Les cas d'intoxications 67
3.1.5.1. Importance 67
3.1.5.2. Les insecticides et les cultures incriminés 69
3.2. Evaluation du risque 72

3.2.1. Cadre général des procédures d'homologation des produits phytosanitaires..... 72
3.2.2. Les essais de toxicité 73
3.2.2.1. Les différents types d'essais 74
3.2.2.2. Les lignes directrices 74
3.2.2.3. Les essais requis en première intention 74
3.2.2.4. Les essais réalisés en seconde intention 77
3.2.3. Etude de la toxicité des principaux insecticides 84
3.2.3.1. Organophosphorés et carbamates 84
3.2.3.2. Pyréthrinoïdes 85
3.2.3.3. Régulateurs de croissance 86
3.2.3.4. Imidaclopride 87
3.2.3.5. Fipronil 90
3.2.4. Les données d'exposition et l'évaluation du risque abeilles 92
3.2.4.1. L'approche classique réglementaire européenne 92
3.2.4.2. L'approche PEC/PNEC 94
3.3. Mesures préventives et gestion du risque 97
3.4. Analyse des phénomènes d'affaiblissements des colonies d'abeilles 99
3.4.1. Premières observations au milieu des années 90 99
3.4.2. La mise en cause du Gaucho ® et l'expertise imidaclopride 100
3.4.3. La mise en cause du fipronil 102
3.4.4. Les insecticides sont-ils les seuls responsables ? 103
3.4.4.1. Maladies de l'abeille 103
3.4.4.2. Autres facteurs 104
3.4.4.3. Les interactions 105
3.4.5. Evolution des troubles, la situation actuelle 105
3.4.6. Conclusion et perspectives 106

CONCLUSION 109

BIBLIOGRAPHIE 111

TABLE DES ILLUSTRATIONS

- Liste des figures

Fig. 1 : Morphologie des trois castes d'abeilles. 16
Fig. 2 : La tête de l'ouvrière. 17
Fig. 3 : Le proboscis étendu de l'ouvrière. 17
Fig. 4 : Le développement d'un œuf d'ouvrière jusqu'à l'imago. 24
Fig. 5 : La danse en huit. Traduction de l'angle de la direction de la source de nourriture par rapport au soleil en un angle relatif à la verticale. 31
Fig. 6 : Les marchés phytosanitaires en Europe en 2003, en millions d'euros. 44
Fig. 7 : Le marché phytosanitaire français par famille de produits, campagne agricole 2003-2004. 45
Fig. 8 : Evolution du tonnage de substances actives vendues en France entre 1990 et 2004. . 46
Fig. 9 : Le carbaryl (à gauche) ; l'aldicarbe (à droite). 50
Fig. 10 : Le fenthion (à gauche) ; le diazinon (à droite). 51
Fig. 11 : La deltaméthrine. 52
Fig. 12 : L'imidaclopride. 54
Fig. 13 : Le fipronil. 55
Fig. 14 : Les sites d'action des insecticides neurotoxiques. 56
Fig. 15 : Le diflubenzuron. 57
Fig. 16 : Les intoxications d'abeilles au Royaume-Uni entre 1988 et 2001. 69
Fig. 17 : Les familles d'insecticides responsables d'intoxications d'abeilles entre 1995 et 2001 au Royaume-Uni. 70
Fig. 18 : La réponse conditionnée d'extension du proboscis. 80
Fig. 19 : Utilisation de la réponse d'extension du proboscis pour l'évaluation des effets des pesticides sur l'apprentissage olfactif. 81
Fig. 20 : Les essais sous tunnel. 83
Fig. 21 : Le schéma OEPP simplifié. 93
Fig. 22 : L'approche PEC/PNEC pour l'évaluation du risque des pesticides. 96

- Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principales espèces cultivées en France, leur dépendance vis-à-vis des insectes pollinisateurs et leur pouvoir attractif pour l'abeille. 37
Tableau 2 : Les essais de toxicité requis en première intention. 75
Tableau 3 : Toxicité des pesticides en fonction de leur DL50. 76
Tableau 4 : Les essais de toxicité réalisés en seconde intention. 77

INTRODUCTION

L'abeille est perçue à la fois comme un animal mystérieux, utile, sympathique, parfois dangereux. Elle a toujours suscité l'intérêt des plus grands naturalistes, depuis l'Antiquité et Aristote jusqu'à von Frisch au siècle dernier, dont les travaux ont été couronnés par un prix Nobel en 1973.

L'homme exploite l'abeille depuis toujours, elle lui fournit le miel mais aussi d'autres produits pour lesquels il n'existe pas toujours de substitut. Son importance en tant qu'espèce pollinisatrice n'a été mesurée que plus récemment ; elle concerne un grand nombre d'espèces végétales sauvages et cultivées à travers le monde. L'agriculture dépend donc en partie de l'abeille mais aussi et de plus en plus de l'utilisation de nombreux insecticides, lesquels représentent un danger réel pour cet insecte pollinisateur. Le risque n'est pas nouveau mais il est en constante évolution : l'apparition constante de nouvelles molécules et techniques d'applications bouleverse les données et suscite de nouvelles craintes. Il convient donc de bien évaluer le risque afin de prendre des mesures de protection adaptées et faire coexister tant bien que mal agriculture moderne et abeilles.

Depuis une dizaine d'années les apiculteurs français observent des troubles graves au sein de leurs colonies et mettent en avant la responsabilité de certains insecticides utilisés en traitement de semences. Ce sont les interrogations soulevées par ce dossier souvent médiatisé ainsi qu'un intérêt particulier pour cet insecte fascinant qu'est l'abeille qui ont motivé ce travail. Celui-ci traite dans les deux premières parties la biologie de l'abeille et son importance (tant économique qu'écologique) puis l'étude des insecticides phytosanitaires. La troisième partie aborde la toxicité et le risque des insecticides pour l'abeille à travers une étude générale des cas d'intoxications puis des différentes méthodes d'évaluation du risque abeilles. Enfin sont analysés les phénomènes d'affaiblissements observés en France.

1. L'ABEILLE ET SON IMPORTANCE

1.1. Biologie de l'abeille

L'abeille domestique *Apis mellifera* est un insecte social de la famille des Apidés vivant en colonies comprenant jusqu'à 50 000 individus. Son alimentation se base sur le nectar et le pollen récoltés sur les fleurs et la survie des colonies à l'hiver est possible grâce au stockage de ces ressources.

La société des abeilles est organisée en trois castes d'individus à la morphologie et aux rôles distincts. Les ouvrières sont les plus nombreuses et remplissent les tâches les plus diverses indispensables à la colonie. La reine est la seule représentante de sa caste, elle assure la ponte et donc le renouvellement des individus. Enfin, les mâles ou faux-bourdons ne sont présents qu'à certaines périodes de l'année pour la fécondation des reines [136].

La connaissance de la biologie appliquée de l'abeille et des interactions au sein de la colonie est un préambule indispensable à la compréhension du mode d'action des insecticides, des phénomènes complexes d'exposition et de transfert des produits au sein de la colonie. Ainsi certaines substances neurotoxiques altèreront les capacités sensorielles, locomotrices ou intégratives de l'abeille, les régulateurs de croissance agiront sur le développement larvaire etc.

1.1.1. Systématique

L'abeille *Apis mellifera* appartient au genre *Apis* qui comprend plusieurs espèces d'abeilles dont la plupart (sauf *Apis mellifera*) se rencontre en Asie du Sud, berceau du genre *Apis* : *Apis florea*, *Apis dorsata*, *Apis laboriosa*, *Apis cerana* et *Apis mellifera*, notre abeille domestique. Cette dernière, originaire d'Afrique tropicale et subtropicale, s'est répandue en Asie de l'Ouest et en Europe. Les déplacements d'abeilles pour les besoins de l'apiculture ont permis la répartition mondiale actuelle de l'espèce. La taille importante de ses colonies, son caractère doux et ses facultés d'adaptation expliquent le succès d'*Apis mellifera* en apiculture, les autres espèces ne possédant pas des aptitudes à l'élevage [99, 136].

L'habitat naturel de l'espèce *Apis mellifera* s'étend depuis l'Afrique du Sud jusqu'en Europe et en Scandinavie du Sud. Sur cette vaste aire de répartition on distingue un nombre important de races même si les échanges d'abeilles ont conduit à quelques hybridations. Les critères utilisés en taxonomie pour définir chaque race sont basés sur la morphologie (taille et proportions du corps, longueur des pièces buccales, pilosité, couleur, formes des nervures alaires principalement) ; ils diffèrent quelquefois du concept de race des apiculteurs qui se basent eux sur des critères plus pragmatiques, à savoir la production de miel, l'agressivité, ou la tendance à l'essaimage [100].

Apis mellifera ligustica, *A. mellifera carnica* et *A. mellifera caucasica* sont les trois races largement utilisées en apiculture, les autres restant très minoritaires. Elles ont été introduites en Amérique du Nord. En Amérique du Sud et Centrale, la race *A. mellifera scutellata* est bien répandue après son introduction dans les années cinquante, on parle d'abeilles « africanisées » pour les différencier de la race africaine d'origine mais il s'agit bien d'une race unique, particulièrement agressive [136].

1.1.2. Anatomie fonctionnelle et physiologie

L'abeille, comme tous les insectes, possède un corps recouvert d'un squelette externe chitineux divisé en trois parties : la tête avec les organes sensoriels et les pièces buccales, le thorax qui porte les deux paires d'ailes et les trois paires de pattes, et l'abdomen, partie la plus postérieure et la plus grande du corps, composé de sept segments visibles et abritant la majorité des organes internes. Chaque segment abdominal est constitué d'une plaque dorsale (tergite) et d'une plaque ventrale (sternite) ; une membrane permet la jonction entre deux segments successifs [136].

La morphologie des individus de chaque caste est différente. La reine est plus grande que l'ouvrière, elle possède un abdomen très développé et un thorax plus volumineux. Le mâle a un corps trapu et de très gros yeux. L'ouvrière est la plus petite de la colonie, elle possède toutes les adaptations aux travaux de la ruche au niveau des pattes et des pièces buccales (cf. figure 1) [136].

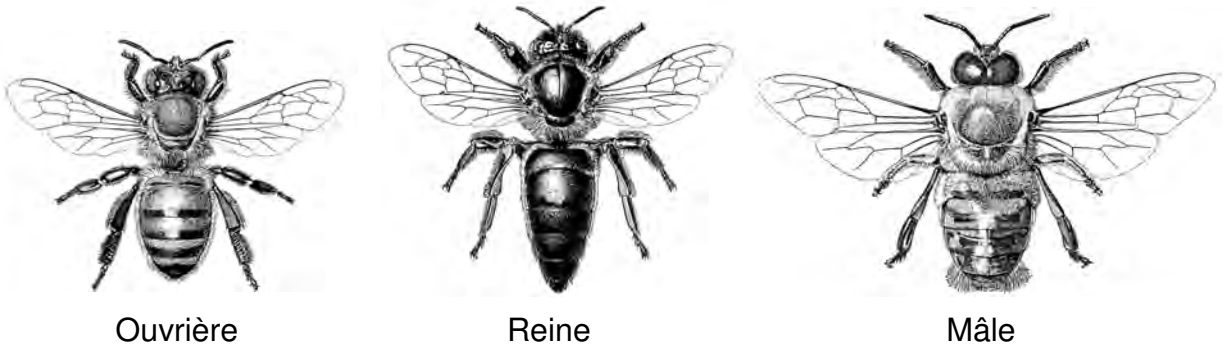


Figure 1 : Morphologie des trois castes d'abeilles.
Source : [28]

1.1.2.1. Les appareils circulatoire et respiratoire

Les systèmes circulatoire et respiratoire fonctionnent indépendamment l'un de l'autre, l'hémolymphe ne jouant aucun rôle dans le transport pas les gaz respiratoires. Le système circulatoire est de type ouvert ; le « sang » ou hémolymphe ne circule pas dans des vaisseaux mais baigne directement les organes internes ; il est mis en circulation par un cœur situé dans l'abdomen.

L'appareil respiratoire des Insectes est constitué par une multitude de tuyaux (trachées) s'ouvrant sur l'extérieur par des petits orifices appelés stigmates. Ils amènent l'oxygène directement au contact des organes et éliminent le gaz carbonique [136].

1.1.2.2. L'appareil digestif et l'alimentation

- Les pièces buccales

Les pièces buccales de l'abeille sont de type lécheur-suceur. Elles sont constituées de plusieurs éléments disposés autour de la bouche (cf. figures 2 et 3) :

- les mandibules sont deux mâchoires fortes attachées sur les côtés de la tête. Elles servent à l'ingestion de pollen, à la préhension et la manipulation de matières solides comme la cire ou la propolis.

- Les maxilles et le labium forment le proboscis. Il s'agit d'une sorte de langue extensible mesurant entre 5,3 et 7,2 mm de long selon la race, utilisée pour ingérer les liquides (nectar, miel, eau) ou des éléments solides après dissolution ; des échanges de nourriture entre les individus ou le léchage des phéromones sur le corps de la reine sont possibles grâce au proboscis [136].

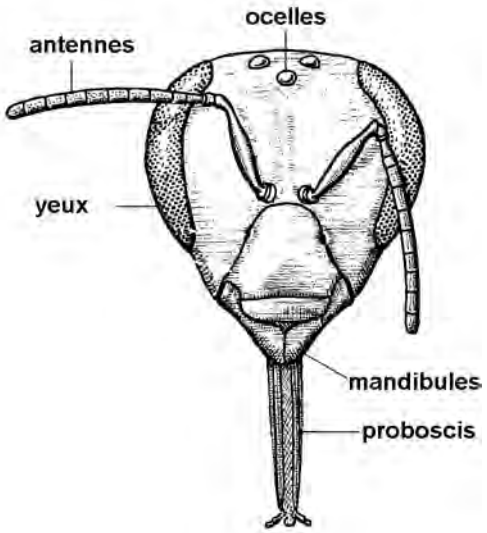


Figure 2 : La tête de l'ouvrière.
Source : [28]

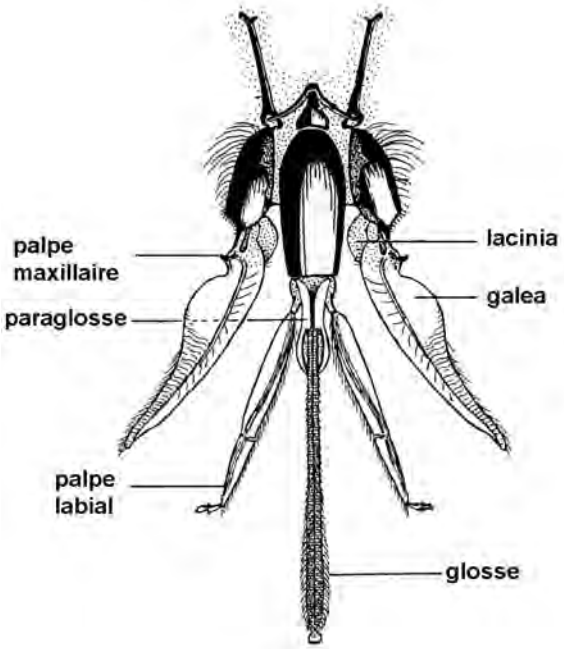


Figure 3 : Le proboscis étendu de l'ouvrière.
Source : [28]

- Le tube digestif

Les matières ingérées sont conduites par l'œsophage jusqu'au jabot, situé dans l'abdomen crânial. Le jabot est extensible ; il sert à accumuler le miel avant le départ des butineuses et à stocker le nectar pour le retour à la ruche. La butineuse délivre sa récolte de nectar aux magasinières lors du retour à la ruche en régurgitant le contenu de son jabot ; cela permet aussi de nombreux échanges de nourriture entre ouvrières ou entre les ouvrières et la reine. La digestion et l'absorption s'effectuent essentiellement dans l'intestin moyen [136].

Annexés au tube digestif, les tubes de Malpighi constituent l'organe excréteur de l'abeille ; ils épurent l'hémolymphe des déchets azotés qui sont éliminés dans l'intestin. Les déchets de la digestion et les produits de l'excrétion sont conduits jusqu'au rectum où ils sont

stockés jusqu'à l'élimination. L'abeille ne défèque jamais dans la ruche, les déjections sont émises lors d'un vol de propreté [136].

- L'alimentation

Les matières premières de l'alimentation de l'abeille sont le pollen et le nectar des fleurs. Le nectar est source de glucides, donc d'énergie ; il peut être consommé tel quel mais il est le plus souvent transformé en miel qui n'est rien d'autre que du nectar modifié après l'action des enzymes digestives et évaporation de l'eau. Le pollen constitue l'apport de protéines. Il est indispensable dans les premiers jours de vie pour le développement glandulaire des ouvrières [136].

1.1.2.3. Le système glandulaire

1.1.2.3.1. Chez l'ouvrière

- Préparation de la nourriture

Présentes uniquement chez l'ouvrière, les glandes hypopharyngiennes participent à la production de gelée royale et atteignent leur plein développement une dizaine de jours après la naissance grâce à une alimentation très riche en pollen ; elles régressent ensuite chez les butineuses. Elles assurent également la production d'enzymes à vocation digestive (invertase surtout) qui interviennent dans la maturation du miel dans le jabot [87].

Les glandes mandibulaires sont bien développées chez l'ouvrière et restent actives toute la vie. Leur sécrétion est utilisée pour ramollir et pétrir la cire et la propolis. Elles participent aussi à la production de gelée royale avec les glandes hypopharyngiennes. Les glandes labiales de la tête et du thorax sont des glandes salivaires [87].

- Communication

La communication chimique est très importante au sein de la colonie. La glande de Nasonov est située sur le dernier segment abdominal et émet une phéromone de recrutement lorsqu'elle est exposée, l'abeille relevant alors l'abdomen et agitant les ailes. Cette sécrétion

attire fortement les abeilles, elle est utile dans la formation de l'essaim et pour guider d'autres ouvrières vers un site de butinage intéressant ou le retour à la ruche, surtout après des conditions climatiques défavorables [54, 136].

D'autres glandes (de Arnhart) sont situées à l'extrémité des pattes et seraient impliquées dans le marquage du nid ou des fleurs visitées. Leur rôle est mal connu [136].

- Défense

La glande à venin est annexée à l'aiguillon. Elle est présente chez l'ouvrière et la reine. Lors de la piqûre l'abeille se retire en laissant l'aiguillon fixé dans le tégument de la victime et le venin est injecté par la contraction des muscles du sac. L'insecte meurt, son abdomen étant déchiré. Ce n'est pas le cas de la reine dont les barbes de l'aiguillon sont petites, elle est donc capable de piquer plusieurs fois. Une phéromone d'alarme est émise dans la chambre de l'aiguillon lorsqu'une ouvrière pique ou qu'elle sort simplement son dard ; celle-ci attire les autres ouvrières et les incite à attaquer [136].

- Production de cire

La cire est la substance utilisée pour la construction des rayons de la ruche. Elle est élaborée par les glandes cirières, des formations paires situées sur l'abdomen ventral uniquement chez l'ouvrière [29]. Leur sécrétion se présente sous forme d'écailles de cire, récoltées par les pattes postérieures qui les ramènent vers mandibules. Grâce aux sécrétions des glandes mandibulaires, l'abeille rassemble et malaxe plusieurs écailles et les utilise pour la construction de cellules [136].

1.1.2.3.2. Chez la reine

Les glandes mandibulaires sont plus développées que chez l'ouvrière. Elles sécrètent la phéromone royale qui se répand parmi tous les individus de la colonie grâce aux contacts et échanges de nourriture. Son action est fondamentale pour la cohésion de la colonie puisqu'elle « stérilise » les ouvrières en inhibant le développement ovarien, empêche la construction de cellules royales et exerce un pouvoir attractif sur les ouvrières qui viennent former une véritable cour autour de la reine pour la nourrir, la nettoyer etc. Enfin, cette « substance royale » attire les mâles lors du vol de fécondation [54, 87, 136].

D'autres glandes aux rôles méconnus se trouvent chez la reine : la glande de Koshevnikov (associée à l'aiguillon), et des glandes épidermiques diffuses, supposées produire toutes deux des odeurs attractives ; la glande de Dufour, au rôle obscur, aurait un rapport avec la ponte. Les glandes tarsales d'Arnhart produiraient une phéromone impliquée dans l'inhibition de la construction de cellules royales [136].

1.1.2.4. Les organes sensoriels

- Les organes visuels

Les ocelles, au nombre de trois, de petite taille et situées dans la région faciale, sont de simples lentilles incapables de focaliser une image. Elles détectent l'intensité lumineuse et peuvent servir pour l'orientation [136].

Les yeux, de grande taille occupent une grande partie de la tête. Ce sont des yeux composés chacun d'environ 5000 entités hexagonales chez l'ouvrière, les ommatidies. Chaque ommatidie possède une lentille et des cellules rétiniennes sensorielles et fonctionne indépendamment. Le système nerveux central intègre chaque information élémentaire pour former une image globale en mosaïque. L'abeille est capable de percevoir les couleurs : elle distingue le bleu, le vert et le rayonnement ultraviolet, est insensible au rouge. La perception des ultraviolets leur permet de voir certains signaux floraux, invisibles pour l'homme, qui les guident au centre des fleurs pour la recherche de nourriture et la pollinisation. Les yeux sont également sensibles à la lumière polarisée, ce qui les aide pour l'orientation, en particulier quand le soleil est caché derrière un ciel nuageux [54].

La vision des mâles de la colonie est plus performante ; ils ont des yeux composés de grande taille, occupant presque toute la surface de la tête ; leur lobe cérébral optique est plus développé. Cela les aide pour repérer plus facilement la reine lors du vol de fécondation [136].

- Les organes olfactifs

Les antennes constituent l'organe olfactif de l'abeille. Elles portent plusieurs types de structures sensorielles sensibles aux odeurs bien sûr mais aussi au taux d'humidité dans l'air, la température ou aux excitations mécaniques et vibrations. Il est admis que la perception des odeurs par l'abeille est comparable à celle de l'homme même si elle serait capable d'évaluer les teneurs ambiantes de dioxyde de carbone ou de vapeur d'eau [136].

- Le goût

Le goût est perçu par l'abeille grâce à trois organes : la bouche et les pièces buccales, les antennes et les tarses. L'abeille reconnaît les quatre saveurs fondamentales décrites chez l'homme : sucré, salé, acide, amer [54].

- L'audition

Les abeilles perçoivent les vibrations transmises par le support à l'aide d'une fine membrane située sur les pattes antérieures et sont pratiquement insensibles aux vibrations de l'air. Les antennes sont munies de deux types de récepteurs qui détectent les vibrations émises lors des danses de communication [54].

1.1.2.5. La locomotion et l'orientation

- Le vol

Le thorax porte tous les organes locomoteurs de l'abeille : les deux paires d'ailes et les trois paires de pattes. Chez l'abeille (et chez les Hyménoptères en général) les deux paires sont reliées entre elles par des crochets ou *hamuli* permettant la coordination des mouvements. Les ailes sont animées par une puissante musculature à une cadence de 200 battements par minute ; l'ouvrière se déplace en vol à une vitesse moyenne de 24 km/h, celle-ci diminue en fonction de son chargement. Elle consomme une partie du miel ou du nectar contenu dans son jabot pour fournir l'énergie nécessaire aux muscles alaires [136].

- L'orientation

Afin de s'orienter pour trouver des ressources florales ou pour retourner à la ruche, l'abeille utilise l'association des sens visuel, olfactif et magnétique. En premier lieu les abeilles utilisent la vue pour se repérer par rapport à la position du soleil à n'importe quel moment de la journée. Par temps faiblement couvert elles utilisent leur perception du rayonnement solaire ultraviolet ; si le soleil est invisible, sa position est évaluée grâce à la perception de la lumière polarisée. Si la perception visuelle ne peut être utilisée elles peuvent tout de même trouver leur chemin en identifiant des repères évidents du paysage (ligne d'arbres par exemple). La perception du champ magnétique terrestre pour l'orientation a également été mise en évidence. Lorsque l'abeille n'est plus trop éloignée c'est l'olfaction qui permet la reconnaissance rapprochée des fleurs et le retour à la ruche [136].

1.1.2.6. Le système nerveux

Le système nerveux des insectes est constitué d'un système nerveux central (SNC, équivalent du système nerveux somatique des vertébrés) et un système nerveux périphérique qui comprend le système stomatogastrique (équivalent du système nerveux autonome) régulant le fonctionnement des organes internes (appareils digestif, respiratoire, circulatoire et génital) [88].

Le SNC est constitué d'une chaîne nerveuse ventrale, formée de ganglions d'où émergent les nerfs ; crânialement, les ganglions ont fusionné pour former un cerveau constitué de trois parties (protocécébron en connexion avec les organes visuels, le deutocérébron qui reçoit les afférences des antennes et le tritocérébron qui est relié à la chaîne nerveuse ventrale par un collier périœsophagien). C'est un système « décentralisé » car le cerveau coordonne les mouvements mais c'est la chaîne ventrale qui contrôle l'activité musculaire avec un certain degré d'autonomie [88, 136].

Chez les insectes il existe un important système neuroendocrinien auquel appartiennent les *corpora cardiaca* et *corpora allata* qui sécrètent des hormones impliquées notamment dans le développement (ecdysone et hormone juvénile) [136].

Il peut être intéressant d'aborder ici la neurotransmission chez l'abeille car beaucoup d'insecticides phytosanitaires agissent en modifiant l'action de ces neurotransmetteurs et perturbent ainsi certaines fonctions essentielles pour l'abeille telles la mémoire, le comportement ou l'activité motrice.

La neurotransmission chez les insectes fait intervenir le plus souvent des neuromédiateurs déjà rencontrés chez les Vertébrés ; les plus connus sont l'acétylcholine (ACh), le acide γ-aminobutyrique (GABA), le glutamate et l'octopamine [13].

L'acétylcholine est un neurotransmetteur excitateur très important qui agit sur deux types de récepteurs (nicotiniques, les plus importants, et muscariniques). Le système nerveux des insectes est le plus riche de tous en récepteurs nicotiniques ; ceux-ci ne sont présents que dans le SNC [13, 73]. Le système cholinergique est reconnu pour être impliqué dans les processus d'apprentissage et de mémoire chez les insectes [68].

Chez les insectes, c'est le glutamate qui intervient dans les synapses de la plaque motrice, ce n'est pas l'ACh. Le glutamate serait également présent dans le SNC [88]. Le GABA est un neurotransmetteur inhibiteur présent dans le SNC et la jonction neuromusculaire somatique. L'octopamine a plusieurs rôles dans le SNC ainsi qu'au niveau des muscles et des glandes [13].

1.1.2.7. Reproduction et développement [136]

Les faux-bourdons et la reine sont les individus reproducteurs de la colonie. Les ouvrières sont des femelles stériles car leur développement ovarien est inhibé par la phéromone royale.

1.1.2.7.1. L'accouplement et le vol de fécondation

La reine effectue un vol de fécondation au début de sa vie. Celui-ci se déroule à une dizaine de mètres de hauteur dans des lieux de rassemblement parfois éloignés de la ruche de plusieurs kilomètres. Plusieurs accouplements successifs rapides (en moyenne six) se produisent au cours du vol de fécondation. La reine accumule ainsi du sperme de plusieurs individus différents provenant d'autres colonies, ce qui autorise une variabilité génétique importante et limite la consanguinité. Un seul vol de fécondation permet la ponte d'œufs

fécondés pendant plusieurs années. Les mâles, amputés d'une partie de leur organe copulateur lors de l'accouplement, meurent peu de temps après.

1.1.2.7.2. La ponte et le développement

Les abeilles présentent un cycle de développement indirect, l'œuf pondu donnant d'abord une larve puis une nymphe (ou pupe) qui se métamorphose finalement en adulte (imago) (cf. figure 4). De l'œuf à l'adulte, la croissance et le gain de poids sont considérables. La reine pond des œufs de petite taille au fond de chaque cellule. Elle peut en pondre jusqu'à 2000 par jour et 200 000 par an.

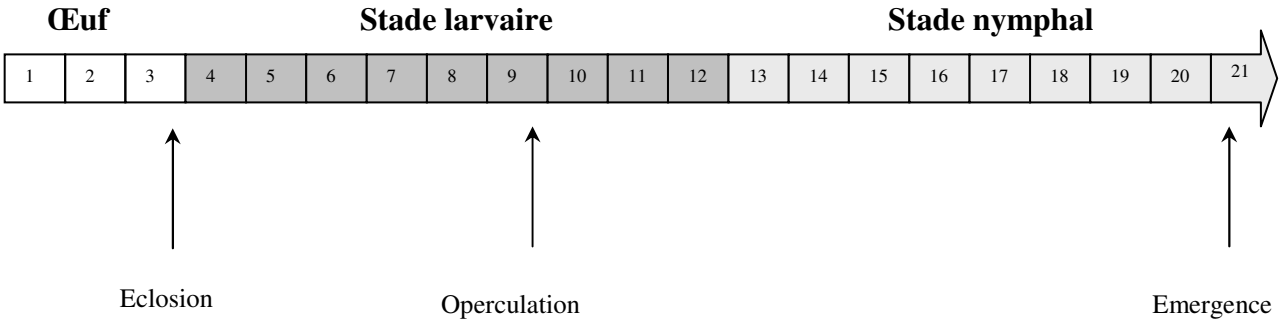


Figure 4 : Le développement d'une œuf d'ouvrière jusqu'à l'imago.
D'après [136].

L'œuf éclot au bout de trois jours en moyenne pour donner une larve de type « asticot » (sans tête) nourrie par les nourrices avant l'operculation des cellules. Après operculation des cellules (entre six et dix jours), la larve commence à tisser un cocon et se métamorphose en pupe lors de sa dernière mue. La nymphe ressemble extérieurement à l'imago (organes sensoriels, ailes, pattes etc.) mais la maturité des organes n'est pas atteinte. La mue finale donne l'imago qui détruit l'opercule avec ses mandibules afin de sortir de la cellule.

Les mues, la métamorphose et la croissance sont sous la dépendance de deux principaux types d'hormones : l'ecdysone pour le contrôle de la mue et de la métamorphose, l'hormone juvénile, sécrétée pendant le stade larvaire et impliquée dans le maintien des caractères larvaires [89].

Les durées totales d'évolution de l'œuf à l'imago sont respectivement de 16, 21 et 24 jours pour la reine, l'ouvrière et le mâle ; il existe cependant des variations selon la température d'élevage ou les disponibilités en nourriture.

1.1.2.7.3. Le déterminisme des castes

Le déterminisme du sexe mâle ou femelle est lié à la fécondation de l'œuf pondu. Les œufs fécondés (diploïdes) donneront une femelle (reine ou ouvrière) et les œufs non fécondés (haploïdes) évolueront en mâles.

Qu'en est-il maintenant de la différenciation entre ouvrière et reine à partir d'un même œuf fécondé ? La qualité et la quantité de nourriture donnée aux larves semblent être les facteurs déterminants. Les larves royales sont nourries avec de la gelée royale, substance constituée principalement par les sécrétions des glandes hypopharyngiennes des ouvrières. Les quantités qui leur sont distribuées sont beaucoup plus importantes. Les effets de la différence d'alimentation ne se manifestent cependant pas pour des larves de moins trois jours : en transposant une larve d'ouvrière de moins de trois jours vers une cellule royale et en lui fournissant une alimentation adaptée celle-ci évoluera en reine.

1.1.3. La répartition des tâches au sein de la colonie [136]

L'intérêt de la division de la colonie en castes réside dans la répartition du travail. La reine, seule représentante de sa caste, assure par la ponte la pérennité de la colonie. C'est l'individu central sur lequel repose la cohésion du groupe. Elle est l'objet de tous les soins de la part des ouvrières. Les mâles eux ont pour seul rôle de s'accoupler avec une reine lors du vol de fécondation ; ils ne participent en rien aux travaux de la ruche. Ils sont en moyenne en faible nombre et même absents en hiver.

Les ouvrières forment l'écrasante majorité des individus de la ruche et en assument tous les travaux : entretien du couvain, construction des rayons, récolte de nourriture etc. Au cours de son existence chaque ouvrière réalise une dizaine de tâches différentes : elle débute par les

travaux d'intérieur et ce n'est que dans les derniers jours qu'elle butinera. Les différentes activités d'une ouvrière au cours de sa vie sont les suivantes :

- **Nettoyage des cellules** : dès les premières heures de sa vie l'ouvrière enlève les débris (restes de cocons et de mues) des cellules.
- **Soins au couvain** : l'ouvrière inspecte et contrôle très souvent les cellules, elle alimente les larves en déposant une goutte de gelée royale.
- **Soins à la reine** : ils sont réalisés pendant la même période que les soins au couvain, soit entre 6 et 16 jours en moyenne. La reine est entourée constamment d'une cour de six à dix ouvrières, qui l'inspectent avec leurs antennes et leurs pattes, la nettoient et la nourrissent de gelée royale.
- **Construction des rayons** : au début, l'ouvrière bouche simplement les cellules du couvain avec un opercule de cire. La construction véritable des rayons est assurée par des ouvrières généralement un peu plus âgées.
- **Manipulation de la nourriture** : à peu près en même temps que la phase de construction, les ouvrières sont manutentionnaires, elles réceptionnent les récoltes des butineuses. Le nectar est reçu de trompe à trompe, il est ensuite exposé à l'air pour l'évaporation d'eau pendant quelques minutes grâce à plusieurs extensions successives du proboscis. Il est ensuite entreposé dans une cellule où l'évaporation continue quelques jours (taux d'humidité final de 18%), grâce à l'action de ventileuses. Le pollen, sommairement déposé par les butineuses, est tassé de façon compacte dans les cellules à l'aide des mandibules après avoir été humidifié par un peu de salive et de miel régurgité. Il se conserve ainsi des mois (pain d'abeille).
- **Ventilation** : le pic de cette activité se situe autour de l'âge de 18 jours. Il s'agit de rafraîchir la ruche et faciliter l'évaporation de l'eau du miel.
- **Gardiennage** : les gardiennes identifient les individus à l'entrée du nid et vérifient leur appartenance à la colonie, elles guettent les prédateurs, prêtes à donner l'alerte et attaquer.
- **Butinage** : c'est souvent la dernière activité avant la mort de l'abeille. Le pic d'activité se situe autour de 23 jours. Les butineuses effectuent une dizaine de voyages par jour en moyenne pendant quatre ou cinq jours, à la recherche de nectar, pollen, propolis et eau.

Certaines tâches nécessitent une spécialisation physiologique ; c'est le cas pour les nourrices ou les cirières pour lesquelles le développement de leur appareil glandulaire est indispensable. D'autres au contraire peuvent être exécutées de la même manière par toutes les ouvrières. La répartition des tâches au cours de la vie d'une ouvrière suit donc un ordre général bien établi mais les adaptations sont nombreuses en fonction des besoins de la colonie. En résumé, l'organisation optimale du travail chez les insectes sociaux comme l'abeille est un compromis entre une division rigoureuse du travail et une certaine flexibilité [66].

1.1.4. L'organisation du nid

L'architecture du nid est remarquable : il est constitué de plusieurs rayons de cire parallèles formés d'un grand nombre de cellules hexagonales disposées dos à dos et inclinées de 13° par rapport au plan horizontal. On trouve deux types de cellules hexagonales : les cellules normales pour le stockage et pour le couvain d'ouvrières, des cellules plus larges pour le couvain mâle. En cas de besoin les cellules royales sont construites à la périphérie des rayons ; elles sont de forme conique et pendent du cadre [136].

Le couvain est réparti au centre des rayons, le pollen est stocké à la proximité immédiate du couvain, le miel en périphérie. Les cellules de mâles et royales sont plutôt en bord de cadre. La disposition centrale du couvain facilite le travail des nourrices et la régulation de la température [136].

Les abeilles bâtissent leur nid dans diverses cavités mais l'homme a de tout temps fourni des cavités artificielles aux abeilles afin de récolter le miel plus facilement : paniers en osier, troncs etc. Les premières ruches ne permettaient pas la récolte du miel sans endommager sérieusement les rayons ou même parfois tuer les abeilles. C'est un révérend américain, L.L. Langstroth, qui réalisa en 1851 la première ruche à cadres mobiles autorisant une inspection des cadres, une récolte du miel plus facile et même la mobilité des colonies. De nombreux perfectionnements ont vu le jour depuis pour faciliter le travail de l'apiculteur (cire gaufrée, couteau à désoperculer, extraction du miel par centrifugeuse) [54, 136].

1.1.5. La récolte de nourriture par les butineuses

La nourriture de la colonie est récoltée par les butineuses qui visitent les fleurs à la recherche de nectar et pollen ou d'autres plantes productrices de miellat.

Le miellat est un produit sucré, reliquat de la digestion des insectes piqueurs parasites des végétaux (pucerons notamment). Beaucoup d'arbres sont producteurs de miellat mais le sapin et l'épicéa sont vraiment les principaux d'intérêt apicole [71]. La pullulation des pucerons peut rendre attractive une plante qui ne l'était pas au départ (cultures de céréales ou pommes de terre par exemple).

Le nectar et le miellat sont aspirés à l'aide du proboscis, transportés dans le jabot et régurgités à la ruche. Les butineuses rapportent le pollen à la ruche en le transportant sous forme de pelotes dans des structures spécialisées (les corbeilles) situées sur la troisième paire de pattes. A l'arrivée dans la ruche, la butineuse décroche les pelotes à l'aide de la deuxième paire de pattes dans une cellule à pollen, une autre ouvrière viendra alors tasser le pollen pour le stockage [136].

Les ouvrières font face à une grande variété de ressources de nectar et pollen, en qualité et en quantité. Elles doivent cibler leurs recherches et sélectionner les plantes les plus rentables. Les plantes bonnes productrices de nectar sont nombreuses ; parmi elles citons la phacélie, la sauge, le thym, la lavande, l'acacia, le tilleul ou le pommier. Quant au pollen, elles manifestent des préférences marquées pour certaines fleurs : elles ignorent ainsi le pollen de conifères, pourtant très abondant. De nombreuses plantes sont sources de pollen, par exemple le coquelicot, les cistes (régions méditerranéennes), certaines légumineuses et composées, le maïs et certains arbres (érable, olivier, buis, orme, châtaignier, hêtre, noisetier, arbres fruitiers) [71].

Le rayon de butinage autour de la ruche peut s'étendre de quelques centaines de mètres à dix kilomètres en cas de ressources très pauvres. A l'échelle de l'individu chaque ouvrière récolte assez spécifiquement du nectar ou du pollen. Au cours de ses voyages successifs, elle a tendance à butiner les fleurs de la même espèce et ce jusqu'à épuisement de la ressource ou l'identification de ressources plus intéressantes. Les fleurs sont explorées méthodiquement et une même zone peut être visitée pendant plusieurs jours consécutifs par la même ouvrière, à

la même période de la journée (en s'accordant au rythme de production du nectar). L'ouvrière gagne en expérience à chaque visite et passe ainsi de moins en moins de temps à exploiter chaque fleur. L'avantage est aussi du côté végétal car les visites successives aux fleurs d'une même espèce facilitent la pollinisation croisée. Si chaque abeille prise individuellement se concentre sur une espèce florale, la colonie, à son échelle, exploite un grand nombre de ressources différentes.

Le nombre de voyages par jour, la quantité de fleurs visitées, le temps passé pour chaque visite varient énormément en fonction de la richesse en nectar ou pollen des fleurs.

Les conditions climatiques influent grandement sur l'activité de butinage : la température doit être suffisante (supérieure à 12°C), le vent, la pluie et la baisse d'intensité lumineuse diminuent les visites. Les butineuses sont capables de travailler sous de mauvaises conditions météorologiques si la qualité et l'abondance des ressources le justifient.

A l'échelle de la colonie, le butinage est régulé de façon complexe. En effet les besoins sont constamment évalués et les recherches adaptées en fonction. Par exemple, un fort taux de ponte de la reine et un couvain de grande taille signifient des besoins en pollen importants. L'adaptation au plus juste des besoins repose sur une communication parfaite entre les individus. Des ouvrières éclaireuses ont la mission de découvrir tous les jours de nouvelles sources de nourriture. Leur localisation et leur nature sont communiquées très précisément aux butineuses à l'aide de danses à la surface des rayons. Celles qui représentent le meilleur compromis entre qualité et éloignement seront choisies.

Il faut savoir que les quantités de miel et pollen nécessaires à la survie de la colonie sont considérables ; il faut plusieurs millions de voyages pour les récolter. Les colonies les moins fortes meurent pendant l'hiver faute de réserves ; c'est particulièrement vrai dans les régions tempérées où les durées de floraison sont faibles et les conditions climatiques parfois défavorables.

Le comportement de butinage subit donc de nombreuses influences toutes en interaction : qualité des ressources florales, conditions climatiques et surtout besoins de la colonie [136].

Il est fondamental de connaître le comportement de butinage pour comprendre l'exposition aux insecticides. Les butineuses sont en première ligne au contact des cultures traitées. Elles peuvent aussi rapporter du nectar ou des pelotes de pollen contaminés à la ruche et diffuser ainsi les substances toxiques parmi toute la colonie.

1.1.6. La communication par les danses [136]

Les phénomènes de communication sont essentiels à la cohésion d'une colonie d'insectes sociaux. La communication chimique est fondamentale mais il existe d'autres moyens. En effet, les butineuses de retour à la ruche sont capables d'indiquer précisément à leurs congénères la localisation d'une source de nourriture grâce à des danses de plusieurs types exécutées à la surface des rayons. Ce sont les travaux de K. von Frisch et son équipe qui ont permis de comprendre le langage des abeilles.

Les butineuses effectuent une **danse en rond** pour communiquer la direction de ressources situées dans l'environnement immédiat de la ruche (moins de quinze mètres).

La **danse oscillante** ou danse en huit est utilisée pour indiquer la localisation des ressources éloignées de plus de cent mètres du nid (cf. figure 5). La butineuse décrit une course en forme de huit, rythmée d'oscillations, vibrations du corps et bourdonnement. La danse est ponctuée d'arrêts au cours desquels se produisent des échanges de nectar avec les autres ouvrières. La distance est transmise par plusieurs moyens : longueur de la course droite, durée de l'oscillation et du bourdonnement et rapidité d'exécution. La direction de la source est communiquée facilement sur un support horizontal, la phase droite indique alors simplement la direction à suivre. Sur les rayons verticaux, la direction horizontale doit être traduite en direction verticale. L'angle de la direction de la source de nourriture par rapport au soleil est évalué puis traduit sur le rayon vertical en un angle par rapport à la verticale (à la direction de la force gravitationnelle) lors de la danse.

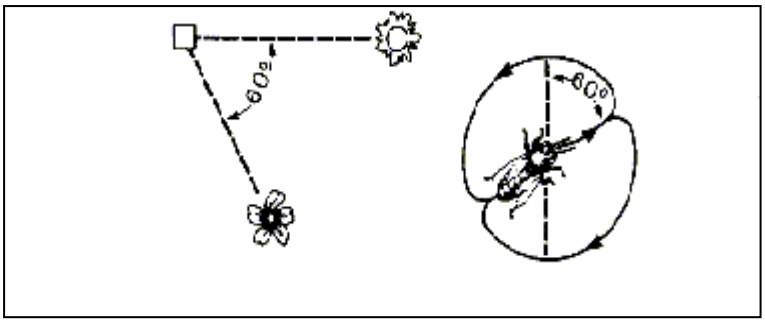


Figure 5 : La danse en huit. Traduction de l'angle de la direction de la source de nourriture par rapport au soleil en un angle relatif à la verticale.

Source : [136]

Un dernier type de danse, la **danse vibratoire dorso-ventrale** ou danse des vibrations est en relation avec la régulation de l'activité saisonnière et journalière de butinage.

La communication par les danses est un phénomène complexe nécessitant l'intégration d'un grand nombre de facteurs par le système nerveux. Toute perturbation de ce comportement (effets sublétaux de certains insecticides) privera la colonie d'informations importantes pour la localisation de ressources nécessaires à sa survie.

1.1.7. Le cycle de la colonie [136]

Le cycle de la colonie subit l'influence des saisons. En région tempérée, la ponte de la reine démarre à la sortie de l'hiver et s'intensifie jusqu'en juin (elle peut atteindre 2000 œufs par jour) ; la population de la ruche est alors maximale, c'est le moment de l'essaimage. Après une baisse au mois d'août due à la chaleur, la ponte reprend en septembre pour fournir les abeilles d'hiver.

En été, les ouvrières ont une activité maximale et une durée de vie courte (de 13 à 38 jours, trois ou quatre semaines en moyenne). A l'opposé, les abeilles d'hiver ont une activité réduite, leur métabolisme est bas, leur durée de vie plus longue (140 jours en moyenne). La reine a une longévité d'un à trois ans en moyenne. Les mâles sont présents en faible nombre dans la colonie (environ un millier) et sont les plus nombreux au printemps et en août lorsque

la colonie est forte et que les vols de fécondation sont les plus nombreux ; ils sont absents l'hiver.

L'essaimage est le moyen de reproduction de la colonie par division, au cours duquel une reine et un groupe d'ouvrières quittent le nid pour fonder une autre colonie. La reine partante est remplacée par une jeune reine. L'essaimage se produit souvent au printemps (mai-juin), lorsque la population est maximale et que la colonie se sent à l'étroit ; il est redouté par les apiculteurs car il représente une perte de nombreuses ouvrières.

Le renouvellement des générations d'abeilles repose uniquement sur la reine. La mort de celle-ci (manipulation, prédateur, maladie etc.) est un événement grave car il peut conduire à la mort de la colonie entière si les ouvrières ne parviennent pas à élever d'urgence une remplaçante. Dans les meilleures conditions (printemps, été), la disparition de la reine provoque une cascade d'événements dans la ruche aboutissant à la naissance puis la fécondation d'une nouvelle reine dans les quatre semaines. En cas d'échec du remplacement de la reine, les ouvrières se mettent à pondre car le développement ovarien n'est plus inhibé par les phéromones royales ; leurs œufs non fécondés donnent tous des mâles : la ruche est dite bourdonneuse ; elle est vouée à la mort, à moins que l'apiculteur n'introduise une nouvelle reine.

1.2. L'abeille et la pollinisation

1.2.1. Définitions

La pollinisation est un phénomène qui intervient dans la reproduction sexuée des Gymnospermes et des Angiospermes. Elle se définit comme le transport des grains de pollen des anthères sur le stigmate des fleurs. Ce transport s'effectue grâce à des facteurs physiques (pesanteur, eau, vent) ou à des agents biologiques (insectes, oiseaux ou mammifères) [52].

Selon la présence d'organes mâles et/ou femelles au sein des fleurs, on distingue :

- des espèces hermaphrodites : les fleurs comportent à la fois les organes mâles et les organes femelles ;

- des espèces monoïques : des fleurs mâles et des fleurs femelles sont portées séparément par un même individu ;
- des espèces dioïques : les fleurs mâles et les fleurs femelles sont portées par des individus distincts.

Cette classification conditionne grandement les modalités de la pollinisation :

- la pollinisation directe ou autopollinisation (ou autogamie) : elle s'effectue soit au sein d'une même fleur (espèces hermaphrodites uniquement), c'est l'autogamie *sensu stricto* ; soit entre deux fleurs distinctes mais portées par le même individu (espèces hermaphrodites ou monoïques), c'est l'autogamie *sensu lato*.
- la pollinisation croisée ou allopollinisation (ou allogamie) : elle a lieu entre deux fleurs portées par deux individus différents. Elle est de fait obligatoire chez les espèces dioïques [43, 52].

De nombreuses espèces hermaphrodites nécessitent une pollinisation croisée car l'autopollinisation leur est impossible : l'allopollinisation est ainsi le mode le plus répandu chez les plantes à fleurs ; elle autorise un brassage génétique important par la mise en commun des génomes de deux individus différents [43, 52].

1.2.2. Les vecteurs de pollen

Le vent (et l'eau) sont des vecteurs de pollen abiotiques, par opposition aux vecteurs biotiques que sont les animaux. Les espèces pollinisées grâce au vent sont qualifiées d'anémophiles. La grande majorité des Gymnospermes sont anémophiles. Seulement 20% des Angiospermes le sont : la plupart des arbres de nos régions (Bétulacées, Fagacées) ainsi que des espèces de familles variées (Poacées, Cypéracées, Chénopodiacées, Polygonacées, Urticacées etc.) [43].

La nécessité pour certaines espèces d'être pollinisées par les animaux est nommée zoogamie. Cette relation dans laquelle et la plante et l'animal tirent du profit est du mutualisme : l'animal profite des éléments offerts par la fleur et permet à plante d'assurer sa reproduction sexuée en transportant le pollen. Un très grand nombre d'espèces différentes sont retrouvées sur les fleurs mais toutes n'en assurent pas la pollinisation ; pour cela les

visites doivent être régulières, nombreuses et ne pas léser la fleur. Certains animaux peuvent profiter des ressources florales sans être bénéfiques à la plante [43, 90].

Les fleurs constituent une source de nourriture (pollen, nectar), un lieu de reproduction pour les animaux, mais pas seulement. En effet certaines espèces attirent les insectes en leur offrant un lieu de ponte, d'accouplement ou parfois même en les piégant ! D'autres ont même développé un moyen pour le moins original d'attirer des visiteurs : elles miment par leur aspect et leur odeur la femelle d'un insecte et attirent ainsi le mâle qui tente de s'accoupler avec la fleur tout en assurant ainsi sa pollinisation [43, 97, 101, 110] .

L'odeur ainsi que l'aspect visuel des fleurs facilitent le repérage par les animaux. Contrairement aux espèces anémophiles, les fleurs des espèces zoogames sont généralement bien visibles : elles sont soit de grande taille, soit regroupées en de larges inflorescences ; les couleurs sont vives, se détachent de l'arrière-plan. Les odeurs émises sont variées : très agréablement parfumées ou au contraire mimant la matière en décomposition pour attirer les mouches (sapromyophilie) [43].

Le repérage à distance par les insectes se fait grâce à la vision tandis que l'odeur permet une reconnaissance rapprochée. Le contraste au sein de la fleur (présence de lignes, taches de couleurs différentes) et la texture de celle-ci guident l'insecte vers les ressources de nectar et pollen [43].

1.2.3. Les animaux pollinisateurs

Un très grand nombre d'espèces animales (Vertébrés ou Invertébrés) vivent en relation avec les fleurs, mais pas toutes n'en assurent la pollinisation. Les Vertébrés pollinisateurs sont des Mammifères (chauves-souris surtout et certains marsupiaux) et des Oiseaux. Ils n'existent pas en Europe [43].

Les pollinisateurs les plus importants à la fois par leur nombre, leur diversité et le nombre d'espèces pollinisées appartiennent à la classe des Insectes ; parmi les insectes, les Coléoptères, Diptères, Lépidoptères et Hyménoptères sont les principaux [97].

Ce sont les abeilles (Hyménoptères, Apoïdes), insectes mellifères, qui constituent les pollinisateurs les plus efficaces. 25 000 espèces d'abeilles sont dénombrées dans le monde, 1200 en France. La grande majorité des abeilles (85 %) ont des mœurs solitaires. 15 % sont des abeilles sociales qui vivent en colonie de plusieurs centaines ou milliers d'individus, dans laquelle existent une hiérarchie et une organisation des activités autour de la présence d'un couvain. Le groupe des Apoïdes est divisé en sept familles distinctes : Collétidés, Andrénidés, Mélittidés, Mégachilidés, Halictidés, Anthophoridés, et Apidés, cette dernière comprenant les espèces sociales (bourdons et abeille domestique) [97].

Les espèces solitaires sont bien moins connues du grand public que l'abeille domestique ou les bourdons. Elles représentent pourtant la grande majorité des abeilles et leur rôle dans la pollinisation des espèces sauvages et cultivées, bien que difficilement estimable, n'est plus à démontrer. Elles sont réparties en six familles, avec différences notoires de morphologie ou de comportement ; il existe de nombreux points communs entre toutes les espèces solitaires : après l'accouplement, la femelle construit un nid souvent dans le sol composé de cinq à quinze cellules dans lesquelles elle accumule des réserves de nectar et pollen et pond. La femelle meurt bien souvent avant l'éclosion de sa descendance [97].

Dans la famille des Apidés (espèces sociales) les bourdons sont des pollinisateurs familiers et efficaces. L'organisation sociale des bourdons est comparable à celle de l'abeille domestique : présence de trois castes d'individus (mâles, reines et ouvrières), les adultes de la colonie s'occupent du couvain. A la différence de la reine abeille, le rôle de la reine des bourdons ne se limite pas à la reproduction et la ponte, puisqu'elle récolte la nourriture, s'occupe des larves etc. De plus, c'est le seul individu de la colonie à survire pendant la mauvaise saison [97].

L'abeille, étudiée dans la partie précédente est l'insecte pollinisateur le mieux connu. A part pour quelques espèces de bourdons ou d'abeilles solitaires c'est même le seul insecte que l'homme ait véritablement réussi à « domestiquer » et à utiliser pour l'apiculture et la pollinisation des cultures. L'abeille domestique ne doit pas pour autant occulter le rôle primordial des autres animaux qui interviennent dans la pollinisation des espèces sauvages et cultivées de toutes les régions du monde.

1.2.4. La pollinisation des cultures

Les espèces cultivées en France appartiennent à un grand nombre de familles différentes, leurs moyens de pollinisation sont donc variés. Certaines sont anémophiles : céréales, graminées fourragères, betterave à sucre, certains arbres fruitiers comme le noyer, le noisetier ou l'olivier. D'autres (vigne, châtaignier) ont une pollinisation mixte dans laquelle interviennent le vent mais aussi les visites d'insectes, en particulier l'abeille domestique [16, 26, 39, 131].

Hormis les exemples précédents beaucoup de cultures nécessitent, à des degrés divers, l'intervention des insectes pour assurer leur pollinisation : c'est le cas des légumineuses fourragères (cultures porte-graines) et protéagineuses, des cultures à graines oléagineuses, fruitières et maraîchères.

La pollinisation efficace des insectes (très souvent l'abeille domestique) a une action démontrée sur les rendements de nombreuses récoltes. C'est le cas de la luzerne (production de graines), du colza et du tournesol [118, 119]. Ces deux dernières sont particulièrement attractives pour l'abeille domestique. Pour les arbres fruitiers c'est souvent la qualité des fruits (taille, forme, conservation) qui dépend d'une bonne pollinisation. L'abeille est ainsi indispensable chez le pommier [67], le poirier, le cerisier, l'amandier et le prunier. Les arbres fruitiers sont souvent recherchés par les abeilles car ils produisent du nectar (et dans une moindre mesure du pollen) en bonne quantité [120]. N'oublions pas que la production de petits fruits (groseilles, cassis, fraises, framboises) et certaines cultures potagères (melon, concombre) requièrent aussi des insectes pollinisateurs (cf. tableau 1) [95, 96].

Les insectes pollinisateurs sont donc des auxiliaires indispensables pour l'agriculture et la pollinisation est un facteur à maîtriser. La connaissance de la biologie de la reproduction des espèces végétales, de leur dépendance vis-à-vis des différentes espèces d'insectes pollinisateurs est primordiale car les rendements et la qualité des récoltes en sont grandement dépendants.

Tableau 1 : Les principales espèces cultivées en France, leur dépendance vis-à-vis des insectes pollinisateurs et leur pouvoir attractif pour l'abeille.

	Besoin d'insectes pour la pollinisation	Pouvoir attractif
LEGUMINEUSES FOURRAGERES		
Luzerne	+++	+++
Trèfles	++	++
GRANDES CULTURES		
Tournesol	+++	+++
Colza	++	+++
Maïs	0	++ (pollen)
Céréales	0	0
CULTURES FRUITIERES		
Amandier	+++	+++
Poirier	+++	+
Pommier	+++	+++
Actinidia	+++	+
Cerisier	++	+++
Pêcher	++	+++
Abricotier	++	+++
Petits fruits	++	++
CULTURES MARAICHERES		
Courge	+++	++
Melon	+++	+++
Tomate	+	0
Aubergine	+	0

Plusieurs études, utilisant des approches différentes, ont été réalisées afin de chiffrer l'incidence économique de l'abeille en agriculture. Il est pourtant difficile, par quelque méthode que ce soit, d'étudier isolément l'impact de l'abeille dans l'augmentation des rendements car ceux-ci sont soumis à un grand nombre d'influences.

En 1989, Borneck et Merle ont mené une étude sur l'incidence de la pollinisation entomophile dans l'Europe des douze. Ils ont évalué l'incidence de la pollinisation par les insectes à environ cinq milliards d'écus, soit 7% de la valeur totale des productions. La part de l'abeille domestique s'élève à 85% de ce chiffre, les 15% restants correspondant au travail des autres pollinisateurs [8]. Carreck et Williams (1998) ont utilisé la même méthode pour leur estimation, en élargissant aux cultures sous serres. Ils ont ainsi évalué la part économique de la pollinisation par l'abeille domestique au Royaume-Uni à 138 millions de livres [14].

L'approche Southwick et Southwick (1992) aux Etats-Unis est totalement différente puisqu'ils ont envisagé le problème en étudiant les conséquences pour le consommateur de la baisse des prix engendrée par les meilleurs rendements dus à la pollinisation. Le bénéfice annuel était estimé à l'époque entre 1,6 et 5,7 milliards de dollars [112].

Toutes ces études ont été réalisées de manières différentes, à des périodes et dans des pays différents. Elles sont donc difficiles à comparer. Cependant toutes s'accordent à dire que l'impact économique de l'abeille dans la pollinisation des cultures est gigantesque et dépasse largement la valeur économique des produits de la ruche.

L'abeille joue un rôle prépondérant grâce au grand nombre de ruches disponibles et à leur mobilité. Il ne faut pour autant négliger l'impact des autres pollinisateurs. Les bourdons sont de plus en plus utilisés, surtout pour la pollinisation des cultures sous serres (tomates, aubergines surtout). L'élevage industriel français de *Bombus terrestris* dégageait un marché de 100 millions de francs en 1992 [97]. L'importance économique de la pollinisation sous serres par les bourdons a été estimée à plus de 29 millions de livres en 1996 [14]. L'impact des abeilles solitaires est impossible à évaluer mais leur intérêt pour la pollinisation de certaines espèces telles la luzerne n'est plus à démontrer. Depuis quelques années leur élevage se développe au Japon, en Europe et aux Etats-Unis. *Megachile rotundata* est ainsi très utilisée aux Etats-Unis dans les champs de luzerne porte-graines [97].

1.2.5. Importance écologique

Le rôle de l'abeille et des autres pollinisateurs dans la pollinisation des espèces sauvages est bien méconnu et difficile à évaluer. Toutefois, un grand nombre de familles de plantes de nos régions dépend très certainement de la présence d'abeilles. La pérennité de ces espèces est à long terme en danger en cas de défaut de pollinisation. L'intervention des insectes est indispensable à la pollinisation croisée, gage de brassage génétique, d'adaptation et d'évolution [25].

Les espèces végétales sauvages doivent être protégées car elles fournissent nourriture et abri à la faune sauvage et domestique, elles aident à la conservation et à la lutte contre l'érosion des sols. La protection de ces végétaux passe aussi par la protection des insectes qui en assurent la pollinisation [25, 97].

L'abeille peut même être utilisée comme bioindicateur de la santé de l'écosystème dans lequel elle évolue. En effet les butineuses explorent une grande zone de plusieurs kilomètres carrés autour de la ruche et rapportent leur récolte à la ruche. En observant la mortalité et en détectant les résidus de pesticides, métaux lourds ou molécules radioactives dans les abeilles ou les produits stockés il est possible d'apprécier le niveau de pollution de l'environnement [15]. Cela permet par exemple de prouver que la colonie a été en contact avec des pesticides et le cas échéant de savoir s'ils ont été appliqués de façon conforme [94].

1.3. L'apiculture et les produits de la ruche

1.3.1. Les produits de la ruche

Le miel et la cire d'abord, la gelée royale, la propolis et le venin ensuite, les produits de la ruche sont nombreux et souvent sans équivalent. Depuis toujours l'homme récolte le miel. Pendant très longtemps il constituait avec les fruits l'un des seuls produits sucrés disponibles, ce qui en faisait un produit précieux et recherché [54].

Le miel est la principale production apicole. Il est consommé tel quel ou incorporé dans des produits dérivés (hydromel, nougat, bonbons etc.). Le pollen, source de protéines pour

l'abeille, l'est aussi pour l'homme en complément alimentaire. Pour sa récolte, des trappes à pollen destinées à décrocher les pelotes des butineuses sont mises en place à l'entrée des ruches. Le pollen est ensuite séché et nettoyé avant son conditionnement en pot [11].

La majorité de la cire récoltée est utilisée par les apiculteurs sous forme de feuilles de cire gaufrée aidant les abeilles à la construction des rayons. Les produits dérivés (bougies, encaustique) sont nombreux, la cire est irremplaçable dans l'industrie cosmétique. La gelée royale est un très riche complément alimentaire ; sa production en petites quantités requiert des méthodes spéciales, ce qui rend son prix très élevé. La propolis est connue pour ses propriétés antibactériennes, antifongiques, cicatrisantes et anti-inflammatoires. Elle peut être incorporée ensuite dans des spécialités pharmaceutiques ou cosmétiques [11].

Tous ces produits peuvent être utilisés en médecine douce, c'est l'apithérapie. Ce type de médecine naturelle rencontre de plus en plus de succès. Le miel, le pollen ou la gelée royale constituent des compléments alimentaires intéressants ; le miel est quelquefois utilisé en milieu hospitalier pour la cicatrisation des plaies, les vertus antimicrobiennes de la propolis peuvent aussi être mises à profit. Le venin peut même être une solution dans la lutte contre les rhumatismes [40].

1.3.2. La filière apicole [51]

La diversité des produits, des acteurs et des modes de commercialisation rendent la filière apicole complexe.

Les apiculteurs peuvent être classés en trois catégories : les amateurs qui possèdent moins de dix ruches, les pluriactifs pour lesquels l'apiculture procure une partie de leurs revenus, et les professionnels qui exploitent plus de 150 ruches. La France (métropole et DOM-TOM) compte en 2004, plus de 1,3 million de ruches et près de 70 000 apiculteurs. On dénombre seulement 1762 apiculteurs professionnels, mais ceux-ci détiennent 45% des ruches (avec 338 unités par apiculteur en moyenne).

Le métier est en nette régression puisqu'on compte environ 15 000 apiculteurs de moins en 2004 par rapport à 1994. La baisse est marquée surtout pour les petits producteurs (moins

de 70 ruches), les professionnels étant en progression. Le nombre total de ruches est quant à lui plutôt stable.

La production française de miel est difficile à évaluer à cause des aléas climatiques, des disparités régionales, des différentes stratégies commerciales et de la transhumance des ruches. Elle paraît relativement stable sur la période 1997-2003, même si la plupart des acteurs de la filière évoquent une tendance à la baisse. Selon une étude différente, la production française de miel est évaluée à 25 500 tonnes en 2004, en baisse de plus de 3000 tonnes par rapport à l'année 1997 avec un rendement moyen chez les professionnels passant de 30 kg/ruche en 1997 à 24 kg/ruche en 2004. Remarquons toutefois que cette étude ne concerne que l'année 2004.

Les apiculteurs avancent quelques hypothèses pour expliquer la baisse ressentie des rendements et de production, les bouleversements climatiques au long terme peuvent en être une ; plus généralement c'est l'évolution de l'environnement apicole qui les préoccupe : urbanisation, appauvrissement des plantes mellifères (monocultures, arrachage des haies, herbicides notamment), utilisation de produits phytosanitaires en général. Ils sont globalement inquiets pour l'avenir de leur profession. Nous reparlerons de ce problème ultérieurement.

Pour conclure cette première partie, il convient de répéter que tous les acteurs du secteur agricole doivent penser à l'impact considérable de l'abeille sur la qualité et la quantité des productions ainsi que sur la biodiversité [81]. De plus, elle est source de revenus pour un grand nombre de personnes, en premier lieu les apiculteurs. Elle doit être protégée, surtout des insecticides, qu'il est à ce titre essentiel de connaître.

2. LES INSECTICIDES PHYTOSANITAIRES

2.1. Généralités

Dans la directive européenne 91/414 qui en régit l'homologation, les produits phytopharmaceutiques sont définis comme « les substances actives et les préparations […] destinées à protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action, […] assurer la conservation des végétaux, […] détruire les végétaux indésirables ou détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux » [23].

Pour désigner un produit phytosanitaire plusieurs expressions plus ou moins synonymes peuvent être employées : produits phytosanitaires, pesticides, produits antiparasitaires à usage agricole, produits pour lutter contre les ennemis des cultures, produits de protection des plantes, produits agrosanitaires, produits agropharmaceutiques [109].

Les produits phytosanitaires sont donc utilisés pour un grand nombre d'indications différentes dont la principale reste la lutte contre les ennemis des cultures. Selon leur spécificité ils sont classés en insecticides, acaricides, aphicides (lutte contre les pucerons), fongicides, herbicides, bactéricides, virucides, nématicides, molluscicides, rodenticides, etc. [109].

Remarque : Les mots « pesticide », « insecticide », « fongicide » sont tous construits à partir du suffixe d'origine latine « -cide » qui signifie « tuer ». Un pesticide tue les ennemis des cultures en général (du terme anglais « pest » : fléau), un insecticide les insectes, un fongicide les champignons etc. Pour autant, toute chose qui détruit les insectes n'est pas un insecticide ; par exemple, les larves de coccinelles éliminant les pucerons ne peuvent être désignées par ce terme (elles entrent dans le cadre de la lutte biologique). Un insecticide est donc un produit chimique [89].

Les ravageurs ont de tout temps causé du tort aux agriculteurs et leur contrôle par des pesticides existe depuis les origines de l'agriculture. Les premiers cultivateurs utilisaient le soufre ou des préparations à base de plantes ou d'huiles végétales. La découverte de certains

ennemis naturels afin de contrôler les populations d'insectes est assez ancienne mais les premiers vrais insecticides datent du début du vingtième siècle ; ils n'étaient pas toujours très efficaces et souvent dangereux [89].

L'emploi des insecticides chimiques n'explose vraiment qu'après la deuxième guerre mondiale. L'usage massif de ces substances aux effets miraculeux à court terme se fait au détriment d'une approche raisonnée. Les effets non intentionnels (résistances, écotoxicité) ne se dévoilent qu'à plus long terme et c'est dans les années 60-70 que les autorités en prennent la mesure [89].

Petit à petit le concept de lutte intégrée se développe, dans lequel tous les aspects (biologiques, technologiques, économiques, écologiques) doivent être pris en compte, le but de cette approche n'étant pas d'éliminer tous les insectes mais de gérer et limiter les populations en dessous d'un seuil à partir duquel les dégâts sont tolérés. Il faut minimiser l'usage des traitements chimiques et leurs effets secondaires et utiliser d'autres moyens de lutte, méthodes agronomiques et biologiques [89, 108].

Les pesticides sont également employés à des fins domestiques (85 % des foyers américains utilisent des pesticides) mais leur débouché principal est agricole. Les rendements et la qualité des récoltes dépendent grandement de l'utilisation de ces produits qui sont devenus indispensables dans l'agriculture moderne [89, 107].

2.2. Le marché des produits phytosanitaires

En 2004, le marché phytosanitaire mondial s'élève à plus de 30 milliards de dollars. L'Europe, l'Amérique du Nord et l'Asie sont les trois plus gros utilisateurs de pesticides avec 78 % du marché. Par famille de produits, les insecticides sont en deuxième position (25 %), à égalité avec les fongicides (24 %) mais loin derrière les herbicides (48%). Les autres produits (molluscicides, nématocides, rodenticides etc.) représentent 3 % du marché mondial [129].

Parmi les insecticides les anciennes familles que sont les organophosphorés et carbamates représentent 52% du marché mondial. Il sont cependant en nette régression (71% du marché

en 1987). Plus récents, les insecticides agissant sur la synapse cholinergique sont en plein essor (+10% entre 1987 et 1999) ; parmi eux l'imidaclopride est le leader mondial [82].

En 1998, les principales cultures consommatrices de pesticides dans le monde sont les fruits et légumes avec 26 % du marché, les céréales et le riz avec 27 % ; le soja, la betterave et le tournesol nécessitent respectivement 8, 3 et 2 %, tandis que les traitements du coton sont évalués à 8% [80].

Le marché phytosanitaire français est considérable. En 2003, avec 1661 millions d'euros, il se situe en troisième place mondiale après les Etats-Unis et le Japon ; c'est aussi de loin le premier marché européen (cf. figure 6) [129]. La France, premier pays agricole du continent, est donc également le leader de la consommation de pesticides.

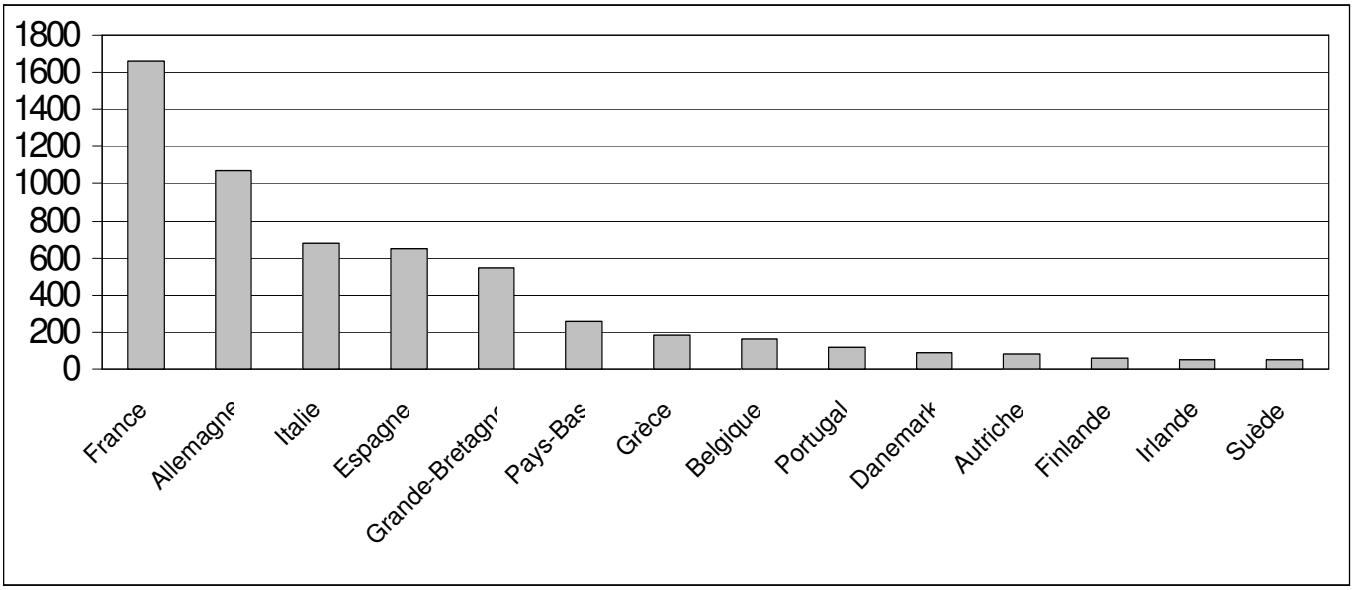


Figure 6 : Les marchés phytosanitaires en Europe en 2003, en millions d'euros.

Source : [129]

Sur le marché national, les insecticides sont relativement peu utilisés puisqu'ils représentent seulement 11 % du marché total (cf. figure 7) [129].

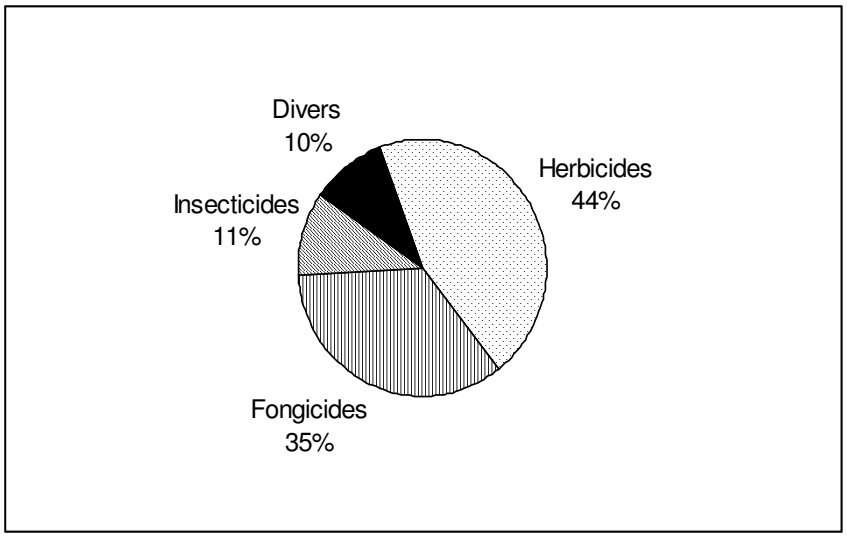


Figure 7 : Le marché phytosanitaire français par famille de produits, campagne agricole 2003-2004.

Source : [129]

En France, 80% des traitements sont réalisés sur les 4 principales cultures : céréales (40%), vigne (20%), maïs (10%), colza (9%). Ce sont les associations fongicides sur céréales et vignes, et herbicides sur céréales, maïs et colza qui sont les plus utilisées. Les insecticides, répétons-le, arrivent après [80].

Depuis quelques années l'utilisation des phytosanitaires est à la baisse (cf. figure 8) ; les exigences environnementales de plus en plus marquées du citoyen et les pressions économiques et réglementaires y sont certainement pour beaucoup [129].

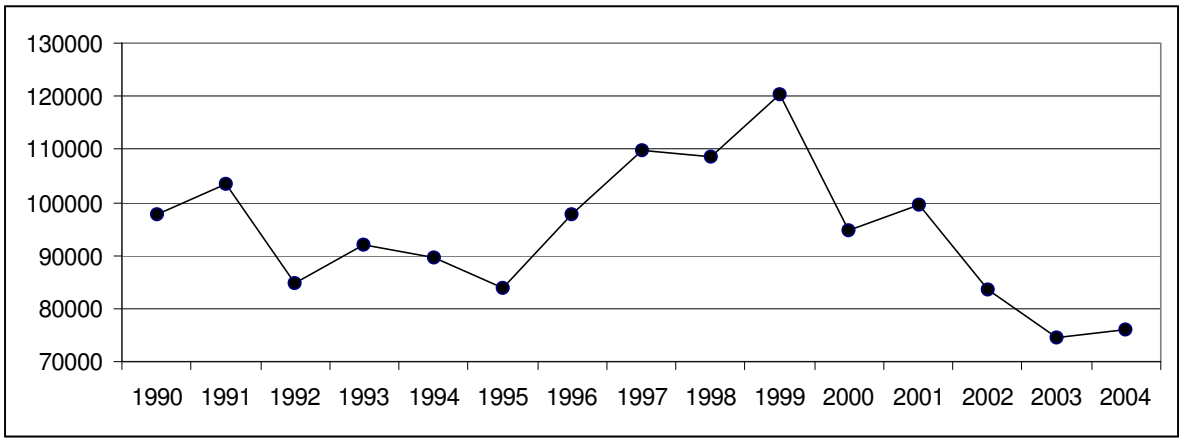


Figure 8: Evolution du tonnage de substances actives vendues en France entre 1990 et 2004.
Source : [129]

2.3. Formulations

La formulation d'un produit phytosanitaire est l'ajout et le mélange à la substance active de diluants, additifs et autres produits auxiliaires afin d'améliorer son action et lui donner une forme (liquide ou solide) permettant son application. La préparation commerciale est le résultat de la formulation. L'objectif est d'obtenir un produit efficace, facile et sûr d'utilisation [50].

Souvent actif à très faible dose, le principe actif doit être dilué, c'est le rôle des solvants et diluants. Peu de substances insecticides sont hydrosolubles et on doit alors utiliser des hydrocarbures (xylène, kérosène etc.), des cétones ou des alcools ; le choix se fait en fonctions des propriétés physico-chimiques de la substance active et du solvant. Les diluants solides servent à l'élaboration de poudre et granulés, les diluants solides peuvent être hydrosolubles ou liposolubles [89].

D'autres molécules auxiliaires sont ajoutées ; les adjuvants renforcent l'efficacité de la substance active, le terme additif est plus général. Ce sont généralement des tensioactifs qui facilitent l'action et l'application de la préparation. Selon les objectifs recherchés on trouve des agents émulsionnants, mouillants, dispersants, stabilisants etc. Certains adjuvants sont utilisés extemporanément par le manipulateur, ils nécessitent alors une autorisation de mise sur le marché spéciale [50].

Toutes ces molécules auxiliaires ne sont pas dénuées de toxicité envers l'homme, les animaux ou l'environnement. Les études toxicologiques portent non seulement sur le principe actif mais aussi sur chaque préparation commerciale [50].

Qu'ils soient à la base sous forme solide ou liquide, la plupart des insecticides est appliquée en pulvérisation après dilution. Les présentations liquides sont les plus répandues (63 %) à la fois en tonnage et en surface traitée. Elles pénètrent et adhèrent mieux aux végétaux, leur dosage est précis. Les présentations liquides à usage phytosanitaire sont variées selon les caractéristiques physico-chimiques du produit et l'usage auquel il est destiné: solutions, suspensions concentrées aqueuses concentrés solubles ou émulsionnables. Elles sont employées le plus souvent après dilution [50].

Les présentations solides sont vendues sous forme de poudres utilisables à sec ou après dilution et sous forme de granulés notamment pour le traitement des sols. Les poudres sont appliquées à sec par poudrage ; elles ne sont un moyen ni efficace ni économique en extérieur ; il s'agit probablement de la formulation la plus toxique pour les abeilles. Les poudres mouillables représentent 13,5 % du total des formulations. Les granulés à disperser pour lesquels un insecticide liquide est adsorbé sur des granules poreux constituent une formulation intéressante. Ils sont utilisés dans la lutte contre les insectes du sol et souvent placés directement avec les graines lors du semis. 17 % des formulations se vendent ainsi. Il existe des formulations à libération prolongée permettant de réduire le nombre d'applications. Les microcapsules par exemple peuvent multiplier par quatre la rémanence du principe actif [50].

2.4. Techniques d'application

2.4.1. Le traitement en pulvérisation

La pulvérisation des parties aériennes des végétaux est la technique classique d'application des produits phytosanitaires ; le liquide contenant l'insecticide est fractionné en gouttelettes par le pulvérisateur. Il existe plusieurs types de pulvérisateurs selon la culture visée (cultures basses, arboriculture, viticulture etc.).

Le déplacement des pulvérisateurs en vue de l'application s'effectue à l'aide d'appareils portatifs pour les petites surfaces, ou le plus souvent de machines terrestres (tracteurs, 4x4, ou traînés pour les appareils de grande capacité) ou aériennes (hélicoptère, ULM, avion) [44].

Lors de l'épandage des insecticides, il y a toujours une dispersion des matières actives dans l'atmosphère sous forme de gouttelettes au-delà des zones traitées, sur des distances qui varient selon :

- les conditions météorologiques du moment (vitesse et direction du vent, courants atmosphériques etc.),
- la nature de la culture traitée : la dispersion est plus grande sur les cultures basses et peu denses,
- le mode opératoire suivi : l'épandage aérien génère une dispersion beaucoup plus forte (jusqu'à 40 % de produit est déposé hors de la cible) que l'épandage terrestre. Le type de pulvérisateur ou le nombre de passages influent également [31].

2.4.2. Le traitement des semences

Le traitement des semences vise d'abord à protéger les graines lors de la germination qui est une phase du développement où la plante est très fragile. Il peut être réalisé selon plusieurs modalités :

- un traitement classique par poudrage à sec ou mieux par pulvérisation. Cette méthode n'assure pas une répartition bien homogène du produit ;
- un traitement par pelliculage qui consiste à déposer une pellicule microporeuse content la substance sur chaque graine. La taille et le poids des graines sont alors peu modifiés ;
- un traitement par enrobage dans lequel la substance phytosanitaire enrobe totalement la graine qui est véritablement dragéifiée jusqu'à obtenir alors une bille plus ou moins grosse selon la taille de la graine (cela facilite par ailleurs le semis des graines petites et irrégulières).

Ce type de traitement permet une application ciblée et limite la dispersion dans l'environnement. La longue persistance obtenue par l'utilisation de molécules systémiques (voir partie suivante) permet de protéger la graine et la plante pendant plusieurs mois après le

semis. Cependant, une exposition si longue peut avoir l'inconvénient de favoriser les résistances des nuisibles ou de limiter l'utilisation alternative d'autres moyens de lutte [50].

2.5. Les traitements systémiques

Une substance systémique est « capable de pénétrer dans une plante, d'y être véhiculée et d'exercer l'activité recherchée vis-à-vis des ravageurs visés ». Pour être systémique, une molécule doit passer dans le xylème des plantes et donc être suffisamment hydrosoluble (solubilité dans l'eau supérieure à 10 mg/litre et coefficient de partage inférieur à 2) [37].

Les insecticides systémiques existent depuis les années cinquante, ce sont essentiellement des organophosphorés, des carbamates et des néonicotinoïdes. Ils possèdent de nombreux avantages par rapport aux molécules classiques : accès à toutes les parties de la plante, grande persistance et durée d'action, ce qui conduit à un nombre plus faible de traitements. Ils peuvent être employés en pulvérisation, en traitement du sol ou en traitement des semences sur une grande diversité de cultures visitées par les abeilles : céréales, maïs, colza, tournesol, vigne et arbres fruitiers [37].

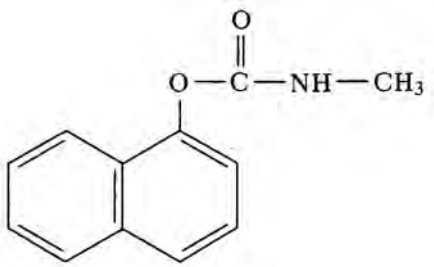
Le traitement des semences par un insecticide systémique permet un optimisation de la quantité utilisée, qui est au contact direct de la graine et se disperse peu dans l'environnement. Cependant ces molécules sont souvent très persistantes dans la plante et les sols, elles peuvent pour certaines se retrouver dans le nectar ou le pollen et ainsi être toxiques pour les abeilles par ingestion ; cela concerne surtout celles qui agissent à très faibles doses, comme l'imidaclopride [17].

2.6. Les différentes familles

2.6.1. Carbamates

Les carbamates sont des insecticides à large spectre utilisés couramment depuis leur mise au point dans les années cinquante. Ce sont des esters de l'acide carbamique généralement non hydrosolubles ; cependant certaines molécules (aldicarbe, carbofurane par exemple) sont aliphatiques, ce qui leur confère un caractère hydrosoluble plus marqué et des propriétés

systémiques (Cf. figure 9). Ces insecticides sont généralement doués d'une toxicité marquée envers les Vertébrés et les Hyménoptères auxiliaires comme l'abeille [6].



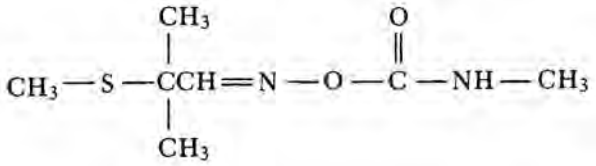


Figure 9 : Le carbaryl (à gauche) ; l'aldicarbe (à droite).

Ce sont des molécules neurotoxiques appartenant au groupe des inhibiteurs de la cholinestérase. La cholinestérase est une enzyme des synapses cholinergiques (localisées dans le système nerveux central chez les insectes) qui catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine libérée dans l'espace intersynaptique. Les carbamates agissent en inactivant (de façon réversible) cette enzyme par le biais de la carbamylation d'un résidu sérine du site actif ; l'acétylcholine n'est plus dégradée et s'accumule alors dans l'espace intersynaptique. Cela crée une hyperstimulation post-synaptique aboutissant à des symptômes tels des convulsions, tremblements, hyperexcitabilité évoluant vers la mort [6].

2.6.2. Organophosphorés

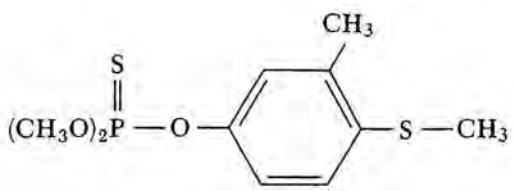
La découverte des propriétés insecticides de cette famille est due aux chimistes militaires allemands lors de la deuxième guerre mondiale, au cours de recherches sur les gaz neurotoxiques. Ce sont actuellement les insecticides les plus répandus en agriculture [89, 93].

Les organophosphorés sont des esters de l'acide phosphorique, ils constituent une grande famille aux structures et propriétés chimiques extrêmement variées. Leur mode d'action est comparable à celui des carbamates : ce sont comme eux des inhibiteurs de la cholinestérase. Ils inactivent cette enzyme par phosphorylation d'un résidu sérine du site actif. L'accumulation du neurotransmetteur (ACh) qui en résulte est responsable d'un déséquilibre dans la neurotransmission et des symptômes observés (hyperexcitation, convulsions, paralysie) qui se terminent par la mort de l'insecte. Les effets ne sont pas immédiats (pas

d'effet « knockdown ») mais l'inactivation de l'enzyme est irréversible, contrairement aux carbamates [6, 93].

C'est un groupe d'insecticides peu sélectifs, généralement assez toxiques pour les Vertébrés. La plupart est classée très dangereux pour les abeilles et leur emploi est interdit durant la floraison. La phosalone fait exception [1]. Leur persistance sur les surfaces traitées est plutôt faible car leur dégradation en composés non toxiques par la lumière se fait en quelques heures ou quelques jours. Ils ont ainsi peu à peu remplacé les organochlorés. Ils sont toutefois de moins en moins utilisés car considérés dangereux en se basant sur les critères d'homologation actuels [89].

Les organophosphorés aliphatiques possèdent un longue chaîne carbonée. On trouve dans ce groupe le tout premier organophosphoré utilisé en agriculture, le TEPP (tetra ethyl pyrophosphate) et d'autres comme le malathion, le diméthoate, le trichlorfon, l'acéphate ou le méthamidophos. Les dérivés phénolés sont plus stables et donc plus rémanents que les dérivés aliphatiques. Citons dans ce groupe le parathion, remplacé depuis par le méthylparathion, le fenthion, le fénitrothion. Les dérivés hétérocycliques (dont les cycles contiennent des atomes de soufre ou d'azote) sont les composés les plus stables. Figurent dans ce groupe le diazinon, le phosmet, le méthidathion ou le chlorpyriphos (cf. figure 10) [6].



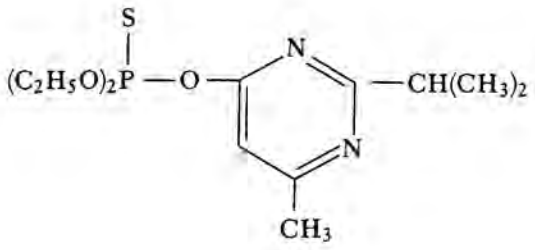


Figure 10 : Le fenthion (à gauche) ; le diazinon (à droite).

Certains organophosphorés ont des propriétés systémiques : acéphate, diméthoate, méthamidophos par exemple [37].

2.6.3. Pyréthroïdes

Les pyréthroïdes (ou pyréthrinoïdes) ne sont pas des insecticides très récents puisque leur premier représentant, l'alléthrine, a été développé en 1949. Les premiers composés de cette famille étaient d'origine végétale (le pyrèthre), extraits de fleurs séchées d'une espèce de chrysanthème [89].

Chimiquement, les pyréthroïdes sont des esters liposolubles (cf. figure 11). En conséquence il n'existe aucun pyréthroïde doté de propriétés systémiques [37]. Ils sont classés en deux types, selon la nature de la partie alcool de la molécule, avec des conséquences sur leur action.

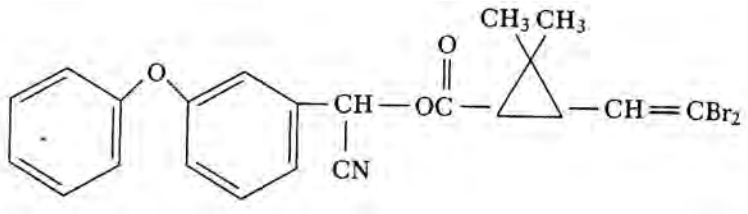


Figure 11 : La deltaméthrine

Les pyréthroïdes de type I provoquent une hyperexcitation et des convulsions chez les insectes, les composés de type II sont plutôt responsables d'ataxie. Dans les deux cas les effets apparaissent très rapidement (une à deux minutes), c'est l'effet « knockdown ». Ce sont des neurotoxiques qui agissent en retardant ou empêchant la fermeture des canaux sodiques membranaires le long de l'axone, ils perturbent ainsi la transmission de l'influx nerveux au niveau des neurones centraux ou périphériques. L'action très brève des molécules de type I désorganise l'influx nerveux des neurones sensitifs et moteurs et même des interneurones du système nerveux central. Le blocage prolongé (plusieurs minutes) des canaux sodiques par les pyréthroïdes de type II entraîne une perte d'excitabilité du neurone. La perturbation du message électrique le long de l'axone est responsable de la libération anormale de neurotransmetteurs au niveau synaptique et donc des effets observés, en particulier sur les mouvements de l'insecte [6].

Les pyréthroïdes sont efficaces à très faibles doses par rapport aux carbamates ou organophosphorés et sont en général d'une plus grande sécurité d'utilisation pour l'homme ou

les insectes auxiliaires de l'agriculture. L'amélioration progressive des premières molécules, en particulier quant à leur stabilité, a permis leur utilisation pour la protection des cultures. Cependant leur dégradation par les rayons ultraviolets est facile et la rémanence sur les végétaux traités et dans les sols dépasse rarement une semaine [89].

La famille est habituellement divisée en quatre générations de composés avec une amélioration nette d'efficacité pour les molécules de dernière génération. Parmi les pyréthroïdes de troisième génération citons le fenvalérate et la perméthrine. Les molécules de quatrième génération agissent à des doses encore plus faibles ; parmi elles, la cyperméthrine, le fluvalinate, la deltaméthrine, la bifenthrine, la λ-cyhalothrine, la cyfluthrine, l'esfenvalérate, ou la téfluthrine [89].

2.6.4. Organochlorés

Les organochlorés constituent la plus vieille classe d'insecticides de synthèse ; ce sont les premiers à avoir été largement utilisés. Ils sont d'une grande efficacité mais leur très grande persistance et leur accumulation dans l'écosystème et la santé humaine font que leur usage a été progressivement et presque totalement abandonné.

Le DDT est l'un d'entre eux, c'est l'insecticide le plus connu du vingtième siècle, très largement utilisé dans les années quarante à soixante avant que l'on ne se rende compte de ses puissants effets non intentionnels. L'hexachlorocyclohexane développé dans les années quarante possède un spectre plus large que le DDT. Un isomère particulier, le lindane, a connu un grand succès. Son emploi n'est plus autorisé mais certains pays en voie de développement l'utilisent encore. Les cyclodiènes sont un autre groupe d'organochlorés abandonné progressivement. L'endosulfan, le dernier insecticide organochloré encore commercialisé en France en fait partie ; il est employé sur grandes cultures, arbres fruitiers et cultures légumières en traitement des parties aériennes [1, 89].

Tous les organochlorés n'ont pas le même mode d'action ; le DDT semble agir sur la transmission de l'influx nerveux le long de l'axone en perturbant les flux transmembranaires de sodium et potassium. Les cyclodiènes, le lindane, l'endosulfan agiraient sur la synapse

GABAergique en inhibant les flux membranaires de chlore au travers des récepteurs canaux postsynaptiques au GABA [6, 13].

2.6.5. Néonicotinoïdes

Il s'agit d'une classe d'insecticides de synthèse dont la découverte est relativement récente. Ce sont des dérivés d'une molécule naturelle : la nicotine, l'alcaloïde du tabac, utilisée comme insecticide depuis le XVIIIème siècle. Très toxique par contact, la nicotine est dangereuse pour les insectes mais aussi pour l'homme. Les néonicotinoïdes sont d'une plus grande sécurité d'emploi [6].

Le principal représentant du groupe des néonicotinoïdes est l'imidaclopride (cf. figure 12), la clothianidine, le nitempyram, le thiamethoxam ou l'acetamipride n'étant pas pour l'instant commercialisés en France pour la protection des plantes [1].

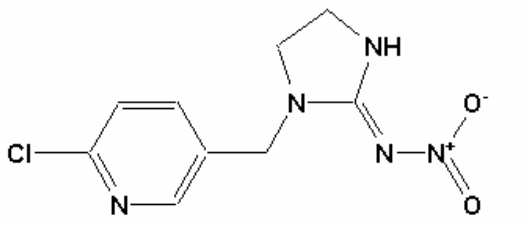


Figure 12 : L'imidaclopride.

Les caractéristiques physicochimiques de l'imidaclopride (hydrosolubilité, coefficient de partage) lui confèrent des propriétés systémiques [37]. De plus, après absorption par la plante l'imidaclopride est transformé en de nombreux métabolites dont certains sont aussi toxiques que la molécule mère pour les ravageurs [117].

L'imidaclopride est efficace, surtout par ingestion, sur un grand nombre d'insectes piqueurs suceurs (pucerons, thrips etc.) mais aussi sur les termites, mouches et divers insectes du sol, même résistants à d'autres familles d'insecticides. Son usage s'est très rapidement répandu dans le monde sur les cultures de céréales, riz, maïs, tournesol, pommes de terre, légumes et arbres fruitiers [17, 89], il est aujourd'hui l'insecticide le plus utilisé dans le monde [82]. La mise sur le marché français date du début des années 1990 comme

traitement par enrobage des semences de betterave, tournesol et maïs (Gaucho®) ou en pulvérisation (Confidor®) [27].

Plusieurs études soulignent la très forte rémanence de l'imidaclopride puisque cet insecticide persiste longtemps dans les végétaux traités et dans le sol jusqu'à deux années après la culture traitée. Les plantes non traitées (cultures ou adventices) peuvent alors absorber les quantités résiduelles dans le sol pendant plusieurs années [7, 17].

Les néonicotinoïdes sont agonistes de l'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques nicotiniques postsynaptiques. L'imidaclopride a une plus grande affinité pour les récepteurs des insectes que pour ceux des vertébrés, ce qui explique sa faible toxicité pour ces derniers [73]. Cependant d'autres sites d'actions sont vraisemblablement impliqués dans leur toxicité ; leur mécanisme d'action est certainement plus complexe, avec l'intervention de plusieurs sous-types de récepteurs cholinergiques [12].

2.6.6. Phénylpyrazolés

Le premier et seul représentant de ce groupe est le fipronil (cf. figure 13). Il est employé dans la lutte contre les ravageurs du feuillage et du sol et est actif sur des insectes résistants à d'autres insecticides. Il est utilisé en traitement des parties aériennes ou de semences (Régent TS ®) ou du sol (Schuss ®) [89]. Sa solubilité dans l'eau (1,9 mg/litre) et son coefficient de partage égal à 4 en font un mauvais systémique : il migre très peu dans la plante, est détecté dans certaines parties où il n'atteint pas cependant des doses suffisantes pour avoir un effet sur les ravageurs [37].

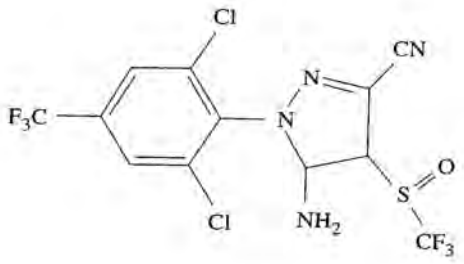


Figure 13 : Le fipronil

Comme l'imidaclopride, il est dégradé au sein de la plante ou dans le sol en plusieurs métabolites plus ou moins toxiques pour les ravageurs ou l'abeille. Sa persistance dans les sols ne serait pas suffisante pour permettre un passage dans les cultures de l'année suivante [58].

Le fipronil est voisin des organochlorés et possède le même mode d'action sur la synapse GABAergique. Il se lie aux canaux chlore de la membrane postsynaptique et empêche leur activation par le GABA. La fixation du GABA sur son récepteur postsynaptique ne peut alors plus déclencher une hyperpolarisation et cela conduit à une hyperexcitation du système nerveux central [6]. Il semble également que le fipronil soit capable d'agir de la même façon (blocage des canaux chlore) sur les synapses faisant intervenir le glutamate (plaque motrice), spécifiques des Invertébrés. Cette action supplémentaire expliquerait sa très grande sélectivité vis-à-vis des insectes ainsi que son efficacité sur des ravageurs résistants à d'autres familles d'insecticides [60].

La figure 14 résume le mode d'action des principaux insecticides neurotoxiques.

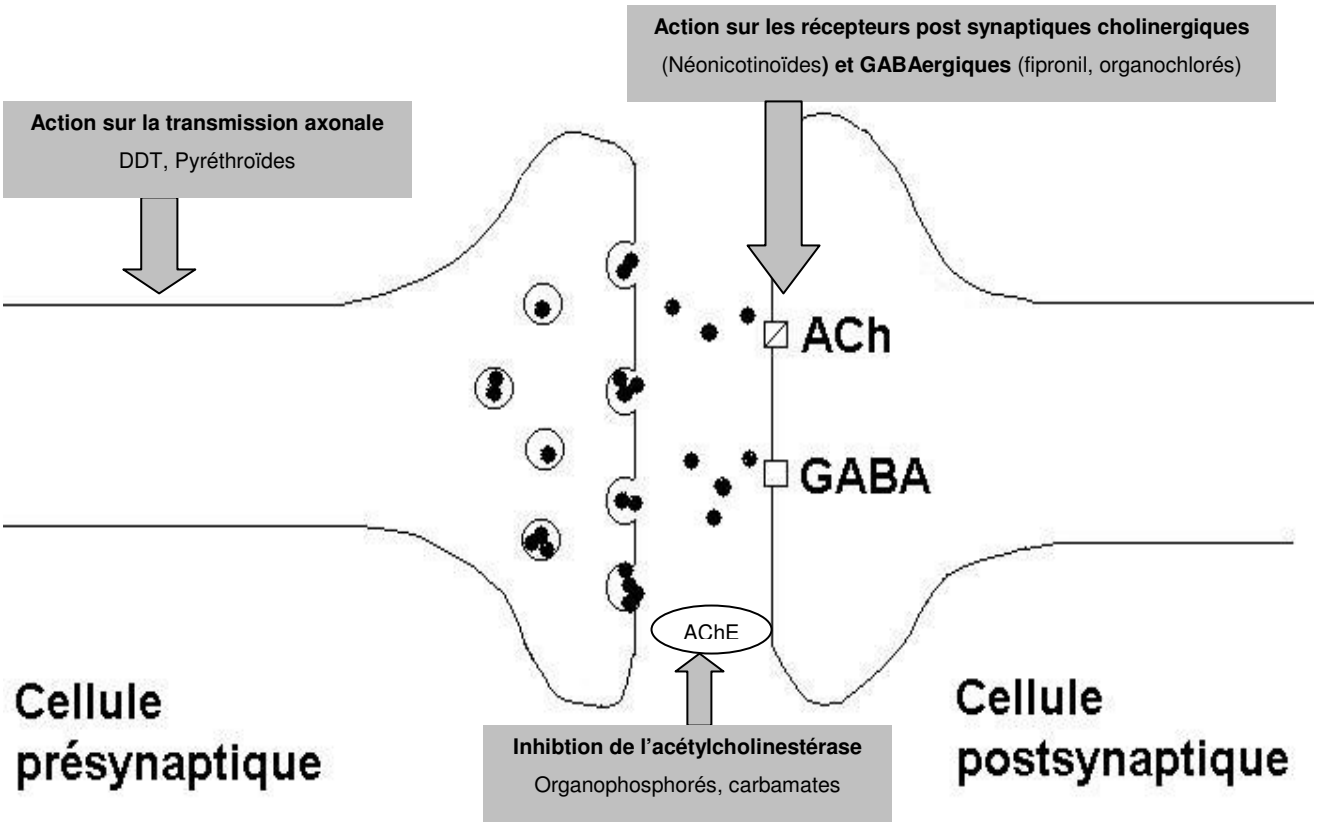


Figure 14 : Les sites d'action des insecticides neurotoxiques.

2.6.7. Régulateurs de croissance

Ce sont des insecticides utilisés depuis 25 ans sur beaucoup de cultures, actuellement en plein développement car actifs sur des phénomènes biologiques spécifiques aux insectes que sont le développement et la mue et donc moins dangereux pour les Vertébrés. Certains comme l'azadirachtine sont même spécifiques de certains insectes et ont un spectre très étroit. Leur mode d'action original leur assure une efficacité sur des ravageurs résistants à d'autres molécules. Par contre, et contrairement à la plupart des neurotoxiques, ils n'ont pas d'action immédiate sur les insectes [89, 121].

Les analogues de l'hormone juvénile (notamment méthoprène, pyriproxifène et le fénoxycarbe, un carbamate) retardent la métamorphose et rallongent donc la phase larvaire, ce qui conduit à la mort de l'insecte. A l'opposé, les analogues de l'ecdysone (tébufénoside) accélèrent les processus de mue. Une substance naturelle identifiée récemment, l'azadirachtine, s'oppose au contraire à l'action de l'ecdysone [6, 89].

Les inhibiteurs de la synthèse de chitine ne sont pas des perturbateurs hormonaux puisqu'ils agissent en bloquant la polymérisation de la chitine, le principal constituant de la cuticule des insectes ; la cuticule est alors trop peu résistante pour la survie de l'insecte. Certains ont une action ovicide. Citons le diflubenzuron (cf. figure 15), le lufénuron, la buprofézine ou l'hexaflumuron ; tous appartiennent à la classe des benzoylphenylurées, des composés liposolubles comportant des atomes halogénés [6, 89].

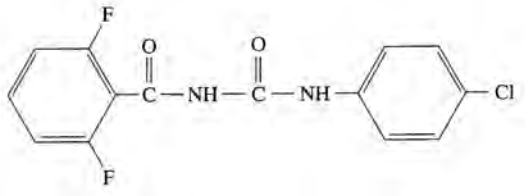


Figure 15 : Le diflubenzuron

Les familles présentées dans cette partie sont les principales et il existe de nombreuses autres molécules, naturelles (nicotine, pyrèthre, roténone) ou de synthèse, aux modes d'action variés. Certains sont aussi des acaricides et agissent sur la respiration cellulaire (tébufenpyrad, pyridabène) ou sur les synapses octopaminergiques (amitraz) [89].

La plupart des insecticides actuels agissent sur le système nerveux. La recherche élabore constamment de nouvelles molécules toujours plus sélectives et agissant à faibles doses, ceci afin de diminuer au maximum leurs effets non intentionnels. Cependant tout insecticide reste dangereux pour l'homme, l'environnement ou la faune auxiliaire. L'abeille est un insecte dont la physiologie n'est pas fondamentalement différente de celle des ravageurs des cultures, elle peut donc souffrir d'une exposition aux insecticides phytosanitaires. La toxicité de ceux-ci doit être comprise et évaluée afin de protéger au maximum cet insecte et à travers lui tous les pollinisateurs.

3. TOXICITE ET RISQUE DES INSECTICIDES POUR L'ABEILLE

L'abeille en tant qu'insecte est vulnérable aux insecticides, c'est une évidence. Il convient à ce stade d'étudier le risque que ceux-ci représentent réellement. De quelle façon l'abeille et sa colonie peuvent-elles être exposées et quels sont les facteurs de risque? Quels sont les insecticides les plus toxiques pour l'abeille et comment leurs effets se manifestent-ils ? Comment le risque abeille des insecticides est-il pris en compte dans les procédures réglementaires d'évaluation du risque et quelles sont les mesures de préventions mises en place ? C'est à toutes ces questions auxquelles nous allons maintenant essayer de répondre sans oublier d'analyser les interrogations actuelles soulevées par les apiculteurs au sujet de l'utilisation d'insecticides systémiques de nouvelle génération.

3.1. Etude générale des intoxications d'abeilles

3.1.1. Modalités d'exposition

3.1.1.1. Pour les adultes

Les insecticides agissent pour la plupart sur le système nerveux par contact et/ou ingestion. La voie d'entrée respiratoire est marginale.

Le contact de l'abeille avec l'insecticide se fait lorsque les butineuses visitent un champ pendant ou après un traitement phytosanitaire. Cela peut être le cas si celui-ci est attractif pour les butineuses (colza, vergers par exemple) ou en cas de présence de plantes adventices attractives. Les butineuses peuvent être touchées quand elles survolent la culture lors de l'application du produit. C'est quand l'épandage se fait en présence de butineuses que les dégâts sont les plus sévères [2]. Elles reçoivent alors une grande quantité de produit sans aucune possibilité de fuite. Le contact des pattes ou du corps entier avec des résidus d'insecticide sur les feuilles ou les fleurs récemment traitées est possible après le traitement. Le danger est d'autant plus grand que la rémanence du produit est longue [72].

La voie d'exposition orale (ingestion de nectar, miellat, miel ou pollen dans la ruche) est moins fréquente que la voie topique. Le miellat est une source potentielle de danger, il peut représenter une source de nourriture intéressante et parfois contaminée pour les abeilles même sur les cultures peu attractives au départ (pomme de terre, céréales par exemple [49, 86]). La contamination de l'eau (rosée, flaque) suite au rinçage du sol ou des végétaux traités est possible.

Le pollen n'est pas consommé par les butineuses, il est rapporté à la ruche et stocké. Les jeunes abeilles pourront alors s'intoxiquer en consommant les réserves. Le pollen contaminé est la voie essentielle de contamination de la ruche [65]. L'exposition orale ne concerne donc pas que les butineuses car les échanges de nourriture assurent la diffusion de l'insecticide au sein des abeilles d'intérieur et au couvain [72].

3.1.1.2. Pour le couvain

De la même façon, le couvain peut être exposé par contact ou par voie orale, mais toujours par l'intermédiaire des ouvrières adultes. Il faut donc bien comprendre le développement de l'œuf jusqu'à l'adulte et les interactions entre les adultes et les immatures dans la ruche.

L'exposition par contact est plutôt limitée pour le couvain. En effet, les contacts directs avec les adultes sont très rares ; par contre, les œufs, larves et nymphes se développent dans des cellules de cire et peuvent être exposés en cas de contamination de celle-ci. De plus certains insecticides lipophiles comme les organochlorés peuvent s'y accumuler. Le passage d'insecticide dans la cire des rayons peut être dû aux contacts avec la cuticule d'abeilles ou le plus souvent par l'intermédiaire des réserves contaminées [30]. Certains traitements anti-Varroa effectués par l'apiculteur (fluvalinate par exemple) peuvent également entraîner la présence de résidus dans la cire [45].

La voie orale est la voie d'entrée principale des insecticides pour le couvain, lors de l'approvisionnement en nourriture des larves. La présence d'insecticide dans la gelée royale sécrétée par les nourrices n'a pas été démontrée et c'est la régurgitation de miel contaminé qui est responsable principalement de l'exposition du couvain [30].

3.1.2. Facteurs de risque

L'importance du risque des insecticides pour l'abeille est soumise à un grand nombre de facteurs de variation liés au traitement lui-même (toxicité intrinsèque, mélange de produits etc.), à son mode d'application, aux cultures traitées ou aux abeilles elles-mêmes (force des colonies, position des ruches) [72].

- Pouvoir attractif de la culture

Les vergers, les champs de colza ou de tournesol sont des ressources mellifères importantes et abritent un grand nombre de butineuses lors de leur floraison. La présence de plantes adventices mellifères ou de nombreux pucerons, sources de miellat, peuvent rendre attractive des cultures qui ne le sont pas habituellement. Les diverses plantes situées à proximité immédiate des champs traités peuvent aussi être contaminées accidentellement lors de l'épandage [114].

- Moment du traitement

La majorité des accidents a lieu lorsque le traitement est réalisé en pleine floraison. C'est la période la plus à risques car les visites d'abeilles sont nombreuses. Un traitement appliqué en pleine journée quand les butineuses sont dans les champs est très dangereux. Les applications de nuit sont beaucoup plus sûres. Les épandages en début de matinée peuvent causer de deux à quatre fois plus de mortalité qu'en fin de soirée [2]. Cela dépend aussi de la culture traitée ; par exemple les butineuses de pollen sur les cultures de maïs visitent les fleurs dans la matinée, car la libération de pollen est alors maximale ; les butineuses sont peu nombreuses l'après-midi et une application à ce moment-là se révèle moins dangereuse [64].

- Conditions climatiques

Un traitement réalisé par beau temps est très dangereux du fait du nombre élevé de butineuses dans les champs. Cela est encore plus marqué quand les conditions climatiques étaient défavorables les jours précédents. La pluie, en nettoyant les végétaux traités, peut réduire le risque d'accident [72]. La température influe beaucoup sur la rémanence des produits, celle-ci est généralement plus longue quand il fait froid, ce qui allonge la durée

d'exposition. Les températures élevées provoquent une augmentation de l'activité de butinage, celle-ci débutant plus tôt dans la matinée, et se terminant plus tard dans la soirée [63]. La température joue aussi sur la toxicité de certains insecticides. Ainsi il a été démontré que les pyréthrinoïdes étaient beaucoup plus toxiques à basse température, c'est l'inverse pour les organophosphorés [128], l'endosulfan est cent fois plus toxique à 30°C qu'à 24°C [48]. Un fort vent favorise la dispersion des insecticides hors des zones visées et augmente le risque [114].

- Mode d'épandage

Un épandage au sol présente moins de risques qu'un épandage aérien qui provoque une plus large dispersion. Les applications à ultra-bas volume utilisent des produits très concentrés et donc très dangereux [2, 64].

- Toxicité intrinsèque de la molécule

Il existe des produits très toxiques pour l'abeille et d'autres moins dangereux. Les essais de toxicité réalisés au laboratoire ou en conditions naturelles permettent d'estimer la toxicité des insecticides et servent de base à l'évaluation du risque ; cela sera étudié ultérieurement.

Certaines associations de pesticides (notamment pyréthroïdes et fongicides) se révèlent très toxiques pour l'abeille [92]. Le danger est donc plus important lorsque l'agriculteur mélange de tels pesticides dans le tank avant l'épandage.

La toxicité des molécules est très différente selon les espèces. On parle d'insecticides sélectifs quand ils présentent une toxicité élevée pour l'espèce cible et une toxicité plus faible pour les autres (auxiliaires, pollinisateurs, faune sauvage, homme). La sélectivité des insecticides repose sur les différences entre les espèces cibles et les autres au niveau de l'absorption, du métabolisme, de la distribution, de l'élimination ou des sites d'action [114].

- Formulation

Même si elles sont très peu utilisées aujourd'hui sur les cultures, les formulations en poudre sont les plus dangereuses. Le corps velu de l'abeille retient facilement les grains de poudre qui peuvent même être rapportés à la ruche avec la récolte de pollen. Les formes micro-encapsulées plus rémanentes libèrent peu à peu l'insecticide dans la ruche après

contamination des provisions [64, 72, 114]. Les insecticides volatils et lipophiles peuvent s'accumuler dans les rayons de cire et contaminer les réserves et le couvain [30].

- Rémanence du produit

Il est évident que les produits à persistance longue sont les plus dangereux car les abeilles y sont exposées plus longtemps. La rémanence dépend des caractéristiques intrinsèques de la molécule mais aussi du type de formulation et des conditions climatiques lors de l'application. Certaines molécules (comme les pyréthrines naturelles) sont plus facilement dégradées par la lumière. L'action résiduelle est fortement influencée par la température puisque les températures basses induisent une rémanence plus élevée. Certains produits ont ainsi une persistance d'action différente et donc un risque pour les abeilles diffèrent selon les régions [64].

Il faut considérer séparément le cas des molécules douées de propriétés systémiques : leur persistance est souvent longue avec contamination du nectar et du pollen, ce qui expose les butineuses à un risque prolongé par ingestion [17, 72].

La persistance de certains insecticides est possible à l'intérieur de la ruche (contamination de la cire ou des réserves), les effets prolongés peuvent alors causer des pertes sévères [30].

- Distance entre les ruches et les cultures

Le risque est moins grand pour les ruches éloignées des zones d'épandage. Les dégâts sont plus limités si les ruches se trouvent à plus de 400 mètres du champ traité, à moins que celui-ci ne constitue la seule ressource disponible [2]. En effet les surfaces couvertes par les butineuses atteignent plusieurs kilomètres carrés et sont d'autant plus grandes que les ressources sont pauvres [64].

- Force des colonies

Les colonies fortes sont celles qui comportent le plus de butineuses, elle sont donc plus sévèrement touchées par les traitements phytosanitaires [64].

- Age des abeilles

La différence de sensibilité vis-à-vis des insecticides entre jeunes et vieilles abeilles a été démontrée pour certaines molécules. Par exemple les jeunes abeilles sont moins sensibles au malathion, cela pourrait être dû au fait qu'elles posséderaient plus d'acétylcholinestérase que les ouvrières plus âgées ; elles seraient par contre plus sensibles au DDT et au carbaryl [64].

- Apports en pollen

Des apports de pollen insuffisants en quantité ou qualité au cours des premiers jours de la vie augmentent la sensibilité des abeilles aux pesticides [135].

- Les différences de sensibilité aux insecticides entre les espèces pollinisatrices

Les insectes pollinisateurs appartiennent à des familles très variées. Les effets des pesticides sont connus chez l'abeille mais les différences interspécifiques le sont beaucoup moins. Quelques études ont évalué les conséquences des traitements sur des espèces pollinisatrices solitaires importantes (*Megachile rotundata*, *Nomia melanderi* principalement). La différence interspécifique de sensibilité aux insecticides est corrélée à la taille des abeilles. *Megachile rotundata* est plus petite, son rapport surface/volume est plus élevé, elle se révèle plus sensible que *Apis mellifera*, qui est elle-même plus sensible que les bourdons [64, 65]. Le comportement et le mode de vie de chaque espèce jouent un rôle déterminant dans la sensibilité aux insecticides : chez l'abeille domestique la reine est beaucoup moins exposée aux traitements car elle reste à l'intérieur de la ruche. Chez les abeilles solitaires et les bourdons, les individus reproducteurs peuvent être directement exposés, ce qui met évidemment la survie de l'espèce en danger. De plus les ruches peuvent être déplacées, ce qui n'est pas le cas des colonies d'abeilles solitaires et de bourdons qui n'ont aucune possibilité de fuite [97].

3.1.3. Expression clinique

L'expression clinique des intoxications et leur vitesse d'évolution sont variables et dépendent du pesticide incriminé et de la dose d'exposition. On distingue des effets aigus ou chroniques, létaux ou sublétaux, sur les adultes ou le couvain.

- Effets létaux

Une intoxication aiguë peut se traduire par une mortalité anormale, intense et brutale : typiquement l'apiculteur constate un grand nombre d'abeilles mortes ou mourantes, à terre, à proximité de la ruche. Les cadavres peuvent s'accumuler à l'intérieur de la ruche, sur le plancher, sans que les nettoyeuses n'aient le temps de les évacuer. Dans les cas d'intoxications aux organophosphorés les abeilles meurent avec le proboscis étendu, la masse de cadavres est alors humide et collante car les ouvrières ont régurgité le nectar contenu dans leur jabot. Si l'action du produit est foudroyante les butineuses meurent au champ, le dépeuplement est brutal sans mortalité visible à proximité de la ruche. Une baisse dans la fréquence des entrées et sorties de la ruche peut être observée [64].

Dans les cas chroniques, la baisse de population des ouvrières (dépopulation de la ruche) fait que le couvain est peu à peu abandonné, la colonie n'est plus correctement protégée des agressions extérieures. Si la colonie n'a pas assez de temps pour reconstituer une population et des réserves suffisantes elle ne survivra pas à l'hiver [63].

- Effets sublétaux

Les insecticides neurotoxiques à faible dose peuvent perturber le comportement des abeilles : tremblements, toilette incessante ou mouvements anormaux, incapacité à voler. De l'agitation ou une agressivité inhabituelle sont aussi parfois observées par l'apiculteur. Les capacités de mémoire, d'apprentissage, d'orientation et de communication de l'abeille, nécessaires au comportement de butinage, peuvent être touchées. En cas de butinage perturbé, de danses de communication inefficaces, les préjudices pour la colonie sont graves [125].

Certains effets sublétaux se manifestent aussi sur la fonction de reproduction : baisse de ponte ou renouvellement impossible de la reine de la colonie. Les insecticides peuvent même avoir des effets plus inattendus sur les larves (malformations non létales chez les adultes exposés pendant la vie larvaire) ou nuire à la reconnaissance entre les individus (signaux chimiques de reconnaissance masqués par les molécules de pesticide). Toutes ces anomalies affaiblissent la colonie qui peut alors être incapable de survivre à la mauvaise saison [125].

Il est important de souligner qu'un « effet sublétal peut devenir, à terme létal. En effet lorsqu'une butineuse est affectée de trouble de mémoire, d'orientation ou de troubles physiologiques affectant les systèmes respiratoire ou circulatoire, elle peut ne pas regagner sa

ruche. Elle mourra alors rapidement de faim ou de froid. L'effet sublétal, n'est donc dans ce cas, qu'apparent » [41].

- Effets sur le couvain

La toxicité sur le couvain concerne essentiellement les régulateurs de croissance qui sont dangereux s'ils sont susceptibles d'être ramenés à la ruche et transmis lors de l'alimentation des larves par les abeilles nourrices. L'exposition des larves aux IGR peut conduire à la mort des larves et des nymphes qui sont évacuées de la ruche par les ouvrières. Les troubles de la croissance et du développement larvaire peuvent aussi aboutir à la naissance d'adultes mal formés (ailes atrophiées, anomalies de la tête ou du thorax) ou aux caractéristiques de castes mal définies (intermédiaire entre reine et ouvrière par exemple). Quelques insecticides ont une action ovicide. Les intoxications du couvain sont quelquefois plus graves que les intoxications aiguës des butineuses car elles nuisent au renouvellement des individus et affaiblissent la colonie [121].

3.1.4. Diagnostic

Le diagnostic de certitude d'une intoxication n'est pas toujours chose facile, surtout pour les cas chroniques ou les mortalités hivernales. Dans certains cas aigus, les mortalités très élevées et brutales sont quasi-pathognomoniques [114]. Dans les cas chroniques la dépopulation est progressive ; c'est un paramètre que l'apiculteur doit apprécier subjectivement car pendant la belle saison (après le pic de population du mois de juin) le nombre d'individus de la colonie décroît de façon normale. Une intoxication chronique causera toutefois une baisse de population plus importante que la normale [5].

La première étape du diagnostic est épidémio-clinique. Il faut s'appuyer dans un premier temps sur les observations de l'apiculteur ; de l'expérience est nécessaire pour pouvoir constater et interpréter certaines anomalies. La suspicion peut être étayée par une enquête épidémiologique qui vise à identifier toute intervention phytosanitaire dans le voisinage avec un produit dangereux pour les abeilles. La mise en évidence de résidus de pesticides au laboratoire confirme l'intoxication. Il est possible aussi mesurer le degré d'inhibition de l'acétylcholinestérase dans des échantillons d'abeilles pour détecter les expositions aux organophosphorés ou carbamates. Cette méthode peut être utilisée afin de différencier les intoxications des maladies [114].

Toutefois, la détection de résidus dans les cadavres d'abeilles (ou les réserves de la ruche) en vue de la confirmation d'une intoxication est loin d'être efficace à 100%. En effet, les résultats sont très variables d'un laboratoire à l'autre et seule une partie des résidus est efficacement décelée ; les substances sont trop nombreuses pour être toutes recherchées. De plus, les pesticides sont très rapidement dégradés dans les échantillons qui doivent être congelés et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire. Ainsi il a été constaté que malgré la quasi-certitude du diagnostic de terrain, les résultats d'analyse étaient négatifs dans 30% des cas [48]

La plupart du temps une intoxication n'est retenue avec certitude que lorsque la quantité de résidus décelée dans l'échantillon dépasse la DL50 du produit incriminé. En considérant la définition même de la DL50 ainsi que les problèmes de détection précédemment évoqués, ceci conduit évidemment à une sous-évaluation du nombre de cas confirmés [48].

En conclusion, le diagnostic de certitude des intoxications est parfois difficile d'autant qu'on ne dispose pas de méthodes suffisamment sensibles. En cas de suspicion d'une intoxication, s'il veut engager une procédure d'indemnisation des dommages subis, l'apiculteur doit demander une confirmation expérimentale en envoyant au plus vite des échantillons au laboratoire.

3.1.5. Les cas d'intoxications

3.1.5.1. Importance

Les premières intoxications d'abeilles coïncident avec les débuts de l'utilisation des produits phytosanitaires minéraux (arsenic), au XIXème siècle. Mais c'est après la seconde guerre mondiale que l'usage massif des pesticides a conduit à de graves pertes d'abeilles. A titre d'exemple, le carbaryl utilisé sur les cultures de coton et maïs aurait causé la destruction de 500 000 colonies en 1967 aux Etats-Unis. Ces pertes concernent évidemment l'abeille domestique mais aussi certaines abeilles solitaires. Les conséquences sont dramatiques pour la profession apicole mais aussi pour les cultures dont la pollinisation dépend de ces insectes [63].

En France, l'utilisation d'organochlorés sur colza a causé de nombreuses pertes dans les années 50 dans le bassin parisien. Peu à peu, la connaissance des effets non intentionnels des insecticides s'est améliorée, et à l'heure actuelle leur utilisation est mieux encadrée. Les chiffres des intoxications d'abeilles constatées chaque année n'atteignent heureusement plus ceux des années 60 [72].

La surveillance des intoxications est indispensable pour identifier les cultures et les traitements à risque, elle permet aussi de mettre en place des mesures préventives. Dans les pays développés, des réseaux plus ou moins établis collectent les données et informent les autorités qui prennent alors les mesures nécessaires (restrictions d'utilisation, information des usagers, retrait des autorisations de mise sur le marché par exemple) afin de réduire le risque pour les abeilles.

Ces résultats permettent également d'avoir une vue d'ensemble du nombre de cas, des molécules et des cultures impliquées dans les accidents. Des études récentes menées dans plusieurs pays européens ont répertorié les intoxications d'abeilles, attestant la baisse constante du nombre d'accidents dus à l'utilisation des produits phytosanitaires. Ainsi, en Allemagne, après un grand nombre d'intoxications dans les années 60 et 70 (parfois jusqu'à 500 cas confirmés annuels), conduisant même à une forte baisse de la population d'abeilles au cours de cette période, la tendance s'inscrit à la baisse depuis 1976 ; une centaine d'intoxications par an est en moyenne constatée depuis les années 90 dans ce pays [10]. Au Royaume-Uni le nombre d'accidents recensés dus aux insecticides a diminué régulièrement : d'une cinquantaine de cas confirmés en 1988 on est passé à une dizaine en 2001 [49] ; le nombre de suspicions est beaucoup plus élevé (cf. figure 16).

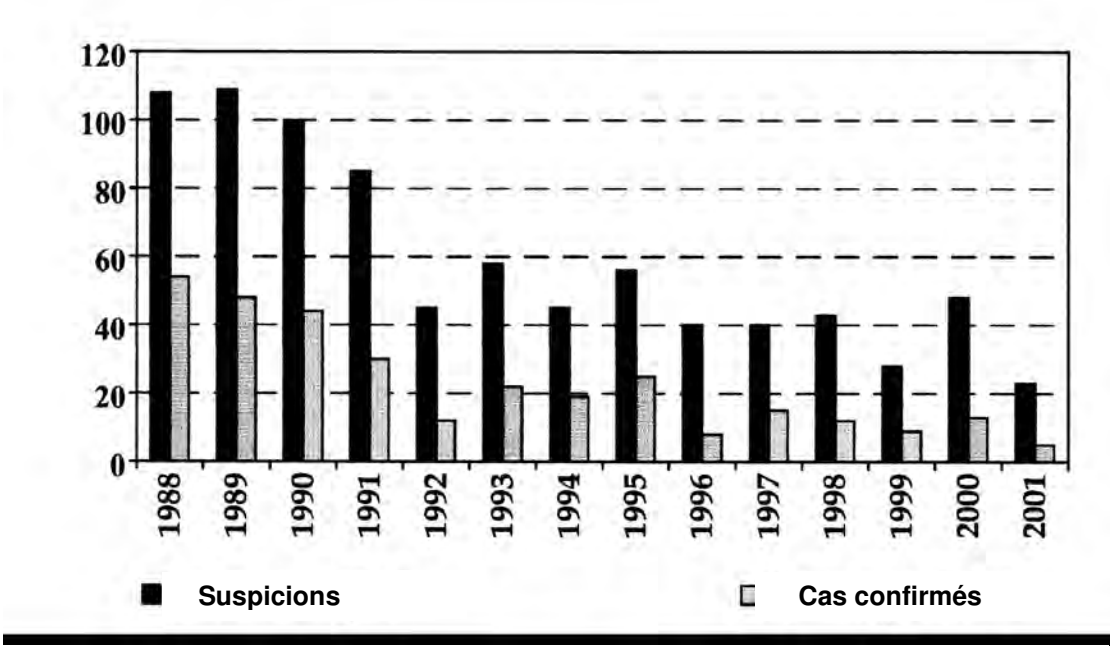


Figure 16 : Les intoxications d'abeilles au Royaume-Uni entre 1988 et 2001.

Source : [49]

Ces chiffres sont relativement bons ; cependant quelques accidents restent possibles, par exemple aux Pays-Bas où 2% des colonies ont été victimes des pesticides en 1996 [86]. Attention cependant à analyser ces chiffres avec prudence pour deux raisons principales : le diagnostic de certitude des intoxications est difficile et les apiculteurs ne déclarent pas forcément toutes leurs suspicions.

En France, les données récentes sont rares du fait de l'absence de réseau de surveillance [5]. Une enquête a constaté 477 cas d'intoxications entre 1982 et 1986 [128]. Plus récemment (entre 1984 et 1994) sur 749 échantillons d'abeilles analysés après suspicion d'intoxication des résidus d'insecticides sont isolés dans 612 échantillons. Il s'agissait surtout d'organophosphorés de pyréthrinoïdes [48].

3.1.5.2. Les insecticides et les cultures incriminés

Les organophosphorés sont souvent responsables d'accidents : ils sont impliqués dans 42% des intoxications au Royaume-Uni ; viennent ensuite les carbamates (29%), les pyréthroïdes (14%) et les organochlorés (4%) (cf. figure 17) [49]. Ces données sont assez

logiques car les organophosphorés et carbamates sont très dangereux pour l'abeille et sont de plus très largement employés [82].

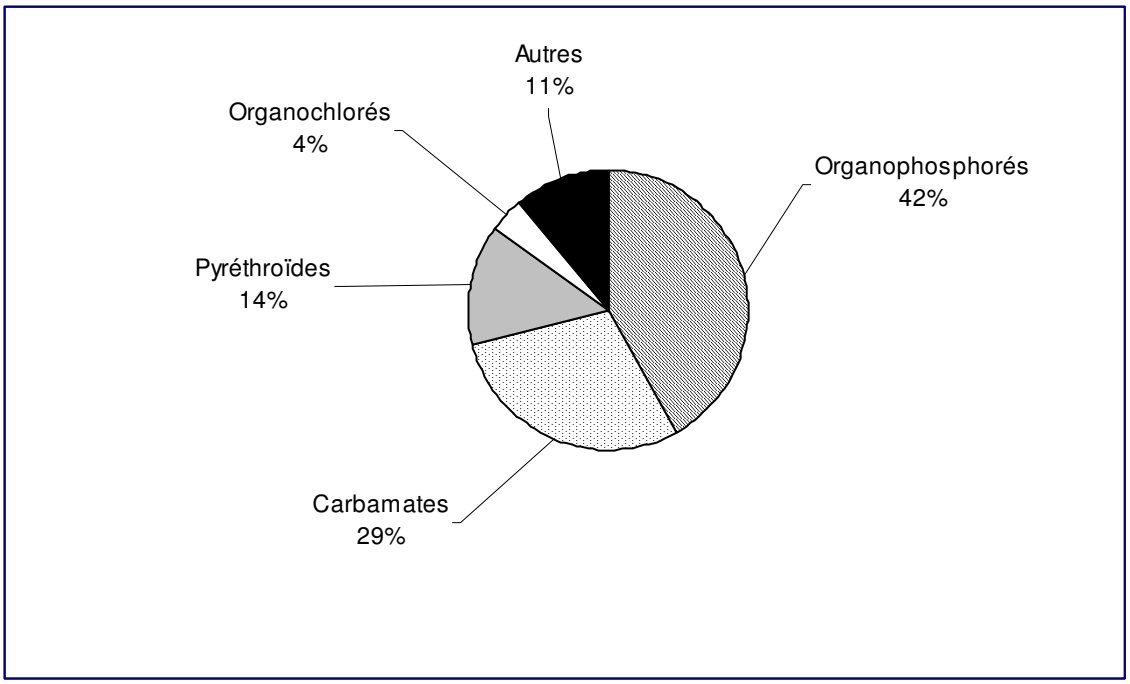


Figure 17 : Les familles d'insecticides responsables d'intoxications d'abeilles entre 1995 et 2001 au Royaume-Uni.

Source : [49]

Aux Pays-Bas, où les données disponibles sont moins précises et moins étoffées, la répartition est du même ordre ; parmi les organophosphorés, le diméthoate et le parathion, utilisés sur les plants de pomme de terre, sont responsables de nombreuses pertes d'abeilles. Les chiffres néerlandais et allemands soulignent aussi l'importance des régulateurs de croissance, le fénoxycarbe en particulier dans les vergers [10, 86]. En 1997 et 1998 en Allemagne c'est surtout l'association pyréthroïdes et fongicides qui a été meurtrière [10].

Quelques cultures particulièrement attractives pour les abeilles comme les vergers et les champs de colza sont dangereuses une fois traitées. Les grandes cultures telles les céréales ou la pomme de terre, à la base peu attractives, peuvent être un lieu de production intense de miellat et donc être visitées par les abeilles. En 1996 en Allemagne et aux Pays-Bas, la

prolifération brutale de pucerons en été obligea les agriculteurs à traiter à plusieurs reprises les champs de pomme de terre. Les abeilles à la recherche de miellat ou visitant les fleurs ont alors été massivement intoxiquées. Le traitement des cultures fourragères, légumières, florales ou ornementales sont responsables d'un petit nombre d'intoxications [10, 86].

Intéressons-nous à présent aux conditions d'utilisation des produits lors des intoxications. Les accidents résultant d'un usage correct du produit phytosanitaire sont en principe des cas inhabituels et isolés ; ils sont de plus en plus rares, ce qui est en accord avec l'amélioration de l'efficacité des procédures d'homologation des insecticides. L'utilisation incorrecte des produits est la cause d'un tiers des cas ; il s'agit très souvent d'un traitement inapproprié en période de floraison des cultures ou des plantes adventices de celles-ci, d'un surdosage ou d'applications trop fréquentes. Les empoisonnements délibérés de ruches sont rarissimes et souvent dus à des querelles de voisinage [49].

Malgré une grande diversité des circonstances des intoxications, très variables selon la zone géographique, les espèces cultivées et les conditions climatiques, il est cependant possible d'en dessiner les grandes lignes : les organophosphorés sont très souvent impliqués sur les grandes cultures ou les vergers à la suite d'un mauvais usage du produit. Dans pratiquement un cas sur deux, les données manquent pour identifier précisément le traitement et la culture responsables ; cela est dû en partie à la grande aire de butinage des abeilles qui ne facilite pas le diagnostic sur le terrain.

En France, une nouvelle fois, les données récentes manquent. Il ne faut toutefois pas occulter le problème qui touche actuellement l'apiculture française : depuis 1995, les apiculteurs exerçant leur activité en zone de grandes cultures déplorent de nombreuses pertes d'abeilles et une baisse de la production de miel ; cela s'inscrit dans un contexte généralisé d'affaiblissement des colonies. Bien que plusieurs hypothèses soient avancées, les professionnels accusent certains insecticides développés récemment (imidaclopride, fipronil) utilisés en enrobage de semences de tournesol et maïs. L'analyse de cette situation sera envisagée dans la partie 3.4.

Les insecticides ont été et sont toujours à l'origine de pertes d'abeilles. Les apiculteurs sont les premiers à en subir les conséquences (baisse de la production de miel et donc de leurs revenus). Le risque existe et doit être évalué au plus juste.

3.2. Evaluation du risque

L'évaluation du risque abeilles fait partie intégrante de l'évaluation réglementaire du risque écotoxicologique des pesticides en vigueur dans les pays de l'Union Européenne. Nous allons envisager les différents essais de toxicité ainsi que quelques résultats à travers une étude de cas concernant les insecticides actuels. Nous considèrerons ensuite l'évaluation du risque proprement dite ; celle-ci se base sur la comparaison des données de toxicité (obtenues lors des essais) aux données d'exposition. Nous verrons ainsi que les essais sont nombreux et qu'il existe plusieurs façons d'estimer l'exposition des abeilles aux pesticides.

3.2.1. Cadre général des procédures d'homologation des produits phytosanitaires

L'homologation des produits phytosanitaires pour leur mise sur le marché s'attache à démontrer leur efficacité mais aussi leur sécurité vis-à-vis de l'applicateur, du consommateur et de l'environnement. La directive 91/414 en vigueur depuis 1991 régit toutes les procédures d'homologation des produits phytosanitaires au niveau européen, cette harmonisation de la réglementation entre tous les pays de l'Union ayant pour but de favoriser le libre échange [38].

Cette directive se compose du texte principal et de six annexes dont l'annexe I qui est la liste positive des substances actives autorisées et les annexes II et III qui précisent les informations nécessaires pour l'inscription des substances actives et des préparations (respectivement) à l'annexe I. Les informations requises par les annexes II et III concernent entre autres l'identification, la chimie, les résidus, les effets sur la faune (dont les abeilles) et l'environnement. La directive 96/12 modifie les annexes II et III de la directive 91/414 et précise les données requises au sujet des études écotoxicologiques. Celles-ci doivent porter

sur les oiseaux, les organismes aquatiques, les arthropodes (abeilles notamment) et les organismes du sol [21, 23, 38].

L'évaluation de la substance active est conduite au niveau européen : pour l'inscription d'une nouvelle matière active à l'annexe I, le pétitionnaire établit un dossier européen comprenant les études portant sur la substance active et une préparation. Celui-ci est examiné par la structure d'homologation d'un des Etats membres, puis discuté par des groupes de travail avant d'être ou non autorisé à l'inscription finale sur la liste positive. Cette procédure peut être longue (deux ans en moyenne) et une autorisation provisoire peut être donnée au niveau national avant l'inscription définitive. Pour les préparations commerciales, l'homologation se fait au niveau national : chaque préparation fait l'objet d'une évaluation dans chaque pays sur la base des exigences de la directive 96/12 avec des essais complémentaires si nécessaire [38].

En France, la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) est sous la compétence de la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) du Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires Rurales. La DGAL s'appuie sur de nombreuses instances composées d'experts permanents ou non. Plus précisément c'est la commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés qui a la charge de l'évaluation des risques liés aux pesticides. Cette instance s'appuie sur la Structure Scientifique Mixte qui coordonne et participe aux travaux d'évaluation du risque. Les autres instances qui participent aux procédures d'AMM des pesticides sont notamment le comité d'homologation et la commission des produits antiparasitaires à usage agricole [113].

3.2.2. Les essais de toxicité

Un insecticide peut avoir un impact sur les abeilles après une exposition unique ou répétée, être toxique pour le couvain ou encore générer différents effets sublétaux à l'échelle de l'individu et de la colonie. Les essais de toxicité sont destinés à connaître au mieux chacun de ces effets et les doses auxquelles ils se manifestent. Confrontés aux données d'exposition, ils vont permettre l'évaluation du risque.

3.2.2.1. Les différents types d'essais

Les essais de toxicité de toxicité pour l'abeille peuvent être réalisés selon plusieurs méthodes. En premier lieu, les essais de laboratoire sont conduits afin évaluer les toxicités orale et par contact, avec des petits groupes d'abeilles. Ils permettent d'étudier un grand nombre d'aspects de la toxicité des produits phytosanitaires, même s'ils ne rendent pas compte de l'ensemble des effets à l'échelle de la colonie. Leur réalisation en conditions contrôlées permet des comparaisons plus faciles, leur coût est moindre [83].

Plus complexes, les essais en cage, sous tunnel et en plein-champ ont pour objet l'étude des effets des pesticides sur les abeilles en extérieur, dans des conditions d'exposition qui se rapprochent plus de la réalité (prise en compte notamment des conditions météorologiques). Contrairement aux essais de laboratoire, ils sont conduits avec des colonies d'abeilles plus ou moins importantes ayant accès à des cultures traitées [83].

3.2.2.2. Les lignes directrices

Un effort d'harmonisation des protocoles a été entrepris depuis une vingtaine d'années avec l'élaboration de lignes directrices pour la plupart des essais qui permettent l'interprétation et la comparaison des résultats entre les différents laboratoires. Les lignes directrices précisent les protocoles à utiliser pour les essais de toxicité aiguë au laboratoire, les essais en cage, sous tunnel ou en plein champ ainsi que pour les essais d'alimentation du couvain. Elles sont élaborées principalement par deux organismes : l'Organisation pour la Coopération et le Développement Economique (OCDE) et l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) qui publie les directives proposées par les experts de l'International Commission of Plant-Bee Relationship (ICP-BR). Cependant les effets chroniques et sublétaux des insecticides chez l'abeille n'ont été envisagés que récemment et ne font toujours pas l'objet de lignes directrices [113].

3.2.2.3. Les essais requis en première intention

Il existe donc un grand nombre d'essais de toxicité mais tous ne sont pas requis d'emblée pour l'évaluation du risque. L'approche classique d'évaluation du risque hiérarchise les essais ; elle s'inspire du schéma OEPP [84]. En première intention, des essais simples de laboratoire sont destinés à évaluer les effets létaux ; si la connaissance de la toxicité doit être

approfondie, d'autres essais sont réalisables au laboratoire, en cage, sous tunnel ou en plein champ (cf. tableau 2). L'approche réglementaire habituelle de l'évaluation du risque abeilles sera envisagée dans la partie 3.2.4.1., nous allons détailler maintenant les essais de toxicité, avec en premier lieu ceux qui sont réalisés en première intention.

Tableau 2 : Les essais de toxicité requis en première intention.

Source : [113]

Essai	Type d'essai	Ligne directrice	Note
Toxicité aiguë par voie orale	Laboratoire	OEPP 170 [83]	a
Toxicité aiguë par contact	Laboratoire	OEPP 170 [83]	a
Toxicité pour le couvain	Plein champ	Oomen *et al.*, 1992 [85]	b

Note a

Les essais de toxicité aiguë au laboratoire ont pour but d'estimer la dose létale médiane (DL50) exprimée en microgrammes de substance par abeille. La DL50 se définit comme la dose unique supposée tuer 50% des individus ; c'est une valeur obtenue après analyse statistique des données. Pour ce faire, les abeilles sont exposées à des doses croissantes d'insecticide par voie orale ou par contact et les mortalités sont comptabilisées jusqu'à 48 heures après l'exposition. Les essais doivent être réalisés selon les bonnes pratiques de laboratoire ; ils peuvent porter sur la substance active et sur la substance commerciale [83].

Par voie orale, les abeilles sont exposées à une solution sucrée contenant la substance à tester. Pour la toxicité par contact, le traitement est effectué individuellement par le dépôt sur le thorax d'une goutte du produit à tester, les abeilles étant préalablement anesthésiées au dioxyde de carbone.

Le protocole prévoit la réalisation de l'essai avec un témoin négatif et un produit de référence dont la toxicité est bien connue, par exemple le diméthoate, qui est un insecticide organophosphoré très toxique pour les abeilles [53].

Deux DL50 (par contact et voie orale) doivent donc être déterminées pour chaque substance. D'une façon générale les insecticides sont plus toxiques par contact que par voie

orale [2, 53]. Les DL50 obtenues, même si elles ne sont pas suffisantes, servent de base pour classer les insecticides selon leur toxicité [2] (cf. tableau 3).

Tableau 3 : Toxicité des pesticides en fonction de leur DL50.

Source : [2]

Substance très toxique	DL 50 < 2 µg/abeille
Substance modérément toxique	2 < DL 50 < 11 µg/abeille
Substance peu toxique	DL 50 > 11 µg/abeille

La variabilité inter-laboratoire est très importante à considérer lors de l'interprétation des essais. Avant l'harmonisation par la mise en place de lignes directrices, les essais par voie orale ou par contact étaient difficilement comparables car ils n'étaient pas réalisés selon le même protocole. Par exemple la concentration en sucre de la solution donnée aux abeilles lors des essais par voie orale est une source de variation de toxicité des insecticides ; les résultats de deux laboratoires utilisant des concentrations différentes ne pouvaient pas être interprétés de la même façon [53].

Note b

Des essais de toxicité sur le couvain sont requis en première intention pour tout produit supposé avoir des effets néfastes sur le développement de l'abeille. Ils concernent évidemment et pour l'essentiel les régulateurs de croissance des insectes. Les tests de laboratoire sont difficilement représentatifs des interactions complexes entre immatures et adultes dans la colonie ; de plus, il est difficile d'élever et manipuler *in vitro* des œufs et larves d'abeilles, la conduite d'essais en conditions plus naturelles se révèle donc indispensable [70].

Ces essais font l'objet d'une ligne directrice de l'OEPP [85]. Il s'agit d'un essai en plein champ dans lequel le développement des cellules du couvain d'une colonie ainsi que la mortalité des adultes et des larves sont suivis pendant trois semaines après la mise à la disposition de la colonie d'une solution sucrée contenant la substance à tester. Le même essai est réalisé simultanément avec un produit de référence à la toxicité connue (fénoxycarbe ou diflubenzuron) et un témoin négatif (solution sucrée seule) ; les résultats sont analysés par

comparaison entre les trois lots. Les butineuses ont un accès libre aux autres ressources naturelles pendant le test. Comme dans tous les essais en plein champ, divers autres paramètres tels que le comportement général de la colonie ou l'activité de vol peuvent également être suivis. Cette méthode a l'avantage d'apporter une harmonisation mais elle n'est pas parfaite : l'accès à d'autres ressources que le sirop contaminé ne permet pas d'évaluer correctement l'exposition réelle du couvain, l'interprétation est qualitative [113]. Il existe d'autres protocoles qui pallient en partie à ces insuffisances [70, 106].

3.2.2.4. Les essais réalisés en seconde intention

Si les premiers résultats sont insuffisants ou mettent en évidence un risque inacceptable, d'autres essais sont réalisés afin d'approfondir la connaissance de la toxicité de la substance à évaluer. Certains sont ciblés pour obtenir des informations précises sur la toxicité chronique par ingestion ou sur les effets sur le comportement. Les essais de terrain (cage, tunnel ou plein champ) ont pour objectif une appréciation plus globale destinée, selon les besoins, à compléter les essais de première intention (cf. tableau 4).

Tableau 4 : Les essais de toxicité réalisés en seconde intention.

Essai	Type d'essai	Paramètre mesuré	Ligne directrice	Note
Toxicité chronique par voie orale	Laboratoire	Mortalité sur 10 jours	Non	c
Toxicité sublétale	Laboratoire, cage, tunnel ou plein champ	Effets sur l'activité motrice, le butinage, l'orientation et les danses	Non	d
		Effets sur l'apprentissage olfactif	Non	e
		Divers	Non	f
Essais en cage/ tunnel/ plein champ		Appréciation globale : effets létaux et sublétaux, sur le couvain et le développement de la ruche	OEPP 170 [83]	g

<u>Note c</u>

Les essais de toxicité chronique sont conduits au laboratoire. Leur objectif est de reproduire les effets de l'ingestion répétée d'insecticides lors du butinage de nectar. Les abeilles sont nourries en continu pendant une dizaine de jours avec un solution sucrée

contenant le produit à tester, la mortalité est relevée pendant ces dix jours. Il n'existe pas de ligne directrice pour de tels essais [116].

Note d

Les essais spécifiques pour estimer la toxicité sublétale s'effectuent en laboratoire, sous tunnel ou en plein champ et évaluent surtout les effets sur le butinage, la communication et l'apprentissage. Cependant, il n'y a aucune ligne directrice pour ce type d'essais même si quelques méthodes ont été développées au cours des études récentes. L'intérêt grandissant des toxicologues pour les effets sublétaux des insecticides (systémiques en particulier) au cours des dernières années a conduit à l'élaboration de nombreuses méthodes dont quelques unes vont être présentées dans cette partie. Même si les résultats de ces études sont parfois en contradiction et pas toujours représentatifs de la réalité du champ, l'étude des effets sublétaux devrait être réalisée pour tous les insecticides, même pour ceux dont la toxicité aiguë est faible ou dont les doses d'application sont minimes [125].

Les relations dose-réponse mises en évidence par les essais de toxicité sublétale permettent la détermination de valeurs seuils déduites après analyse statistique et utilisées pour l'évaluation du risque ; il s'agit de la NOEC (No Observed Effect Concentration) qui est la concentration la plus forte d'une substance ne conduisant pas à un effet, et de la LOEC (Lowest Observable Effect Concentration) qui est la concentration la plus faible d'une substance conduisant à un effet.

L'étude de la motricité d'abeilles placées dans des cagettes d'observation en verre est un premier moyen intéressant d'apprécier les effets délétères des insecticides sur leur comportement moteur. Ce type d'essai n'évalue pas les effets sur le vol des abeilles mais sur leur activité motrice générale [42, 68, 76].

L'étude des effets sur le butinage se réalise obligatoirement dans des conditions suffisamment représentatives de la réalité, en utilisant des colonies sous tunnel par exemple. Il est possible par exemple de comptabiliser les visites de butineuses sur un nourrisseur contenant une solution sucrée situé à quelques mètres de la ruche [9, 32, 56], l'enregistrement des entrées et sorties d'abeilles grâce à des compteurs automatisés placés à l'entrée de la ruche peut apporter une aide précieuse dans ce type d'études [91].

Enfin, d'autres études ont été consacrées aux effets des insecticides **sur la communication sociale par les danses**. Elles sont cependant difficiles à mettre en œuvre car l'observation et l'interprétation des danses sont fastidieuses [91, 105].

Note e

Les effets des insecticides sur l'apprentissage olfactif ont été assez largement étudiés au cours de ces dernières années, ils constituent un bon moyen d'apprécier les effets sublétaux.

Au cours de ses visites florales, chaque butineuse est capable de mémoriser l'odeur, la couleur et la forme d'une fleur après avoir obtenu une récompense (nectar ou pollen) de celle-ci. La mémorisation des odeurs florales joue un rôle très important dans le butinage. Certaines molécules neurotoxiques ont des effets néfastes sur les processus de mémoire chez l'abeille, avec des conséquences graves sur l'efficacité des butineuses et donc sur la colonie dans son ensemble. Ces effets peuvent être évalués au laboratoire grâce à un essai basé sur la réponse d'extension du proboscis, ou en conditions naturelles.

L'analyse du réflexe d'extension du proboscis (REP) est un test réalisé au laboratoire basé sur le phénomène physiologique d'apprentissage olfactif et de mémorisation chez l'abeille. Cet essai est intéressant car il reproduit de façon assez fidèle au laboratoire des phénomènes ayant lieu en conditions naturelles chez les butineuses [33, 34, 91]. Cela permet de disposer de données fiables, avec tous les avantages des essais de laboratoire par rapport aux essais sous tunnel ou en plein champ (conditions contrôlées, moindre coût etc.). Il est utilisé pour étudier les effets sublétaux des produits phytosanitaires mais il permet aussi d'améliorer la compréhension des phénomènes d'apprentissage et de mémorisation chez l'abeille [68].

Physiologiquement, la réponse d'extension du proboscis est provoquée par le contact d'une solution sucrée avec les récepteurs gustatifs des antennes de l'ouvrière (stimulus inconditionnel). Le test consiste en un conditionnement au cours duquel le stimulus inconditionnel est associé à un stimulus conditionnel (odeur florale). La réponse d'extension du proboscis qui s'en suit est récompensée par une solution sucrée. Après le conditionnement, l'abeille présente une réponse d'extension du proboscis suite au stimulus conditionnel seul (cf. figure 18) [33].

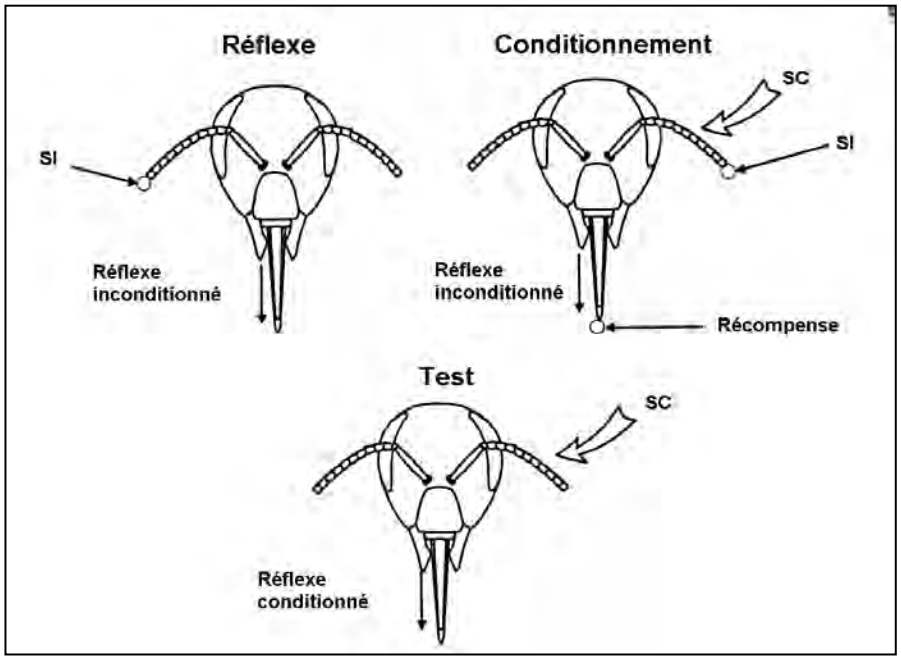


Figure 18 : La réponse conditionnée d'extension du proboscis.

SC : Stimulus conditionnel ; SI : Stimulus inconditionnel.
Source : [33]

Plusieurs essais de conditionnement sont nécessaires pour que le taux de réponses conditionnées soit maximal. C'est la phase d'acquisition, suivie par une phase d'extinction au cours de laquelle le stimulus conditionnel est présenté seul. Au cours de celle-ci le taux de réponses conditionnées diminue car les abeilles répondent de moins en moins au stimulus odorant non récompensé. Les effets des pesticides sont évalués à partir de la phase d'acquisition ou de la phase d'extinction (cf. figure 19) [33].

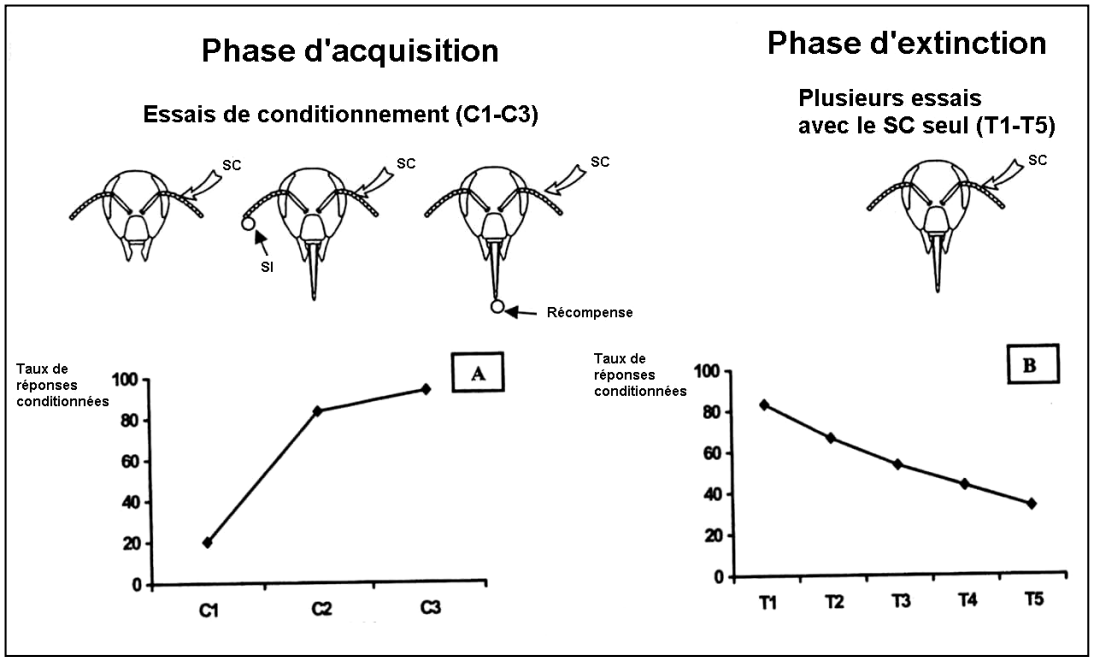


Figure 19 : Utilisation de la réponse d'extension du proboscis pour l'évaluation des effets des pesticides sur l'apprentissage olfactif.

SC : Stimulus conditionnel ; SI : Stimulus inconditionnel.
A : Le taux d'acquisition de réponses conditionnées représente les facultés d'apprentissage.
B : Plusieurs SC non récompensés induisent un taux de réponse de plus en plus faible.

Source : [33]

L'acquisition du réflexe conditionné fait plutôt intervenir la mémoire à court terme alors que c'est la mémoire à long terme qui est testée au cours de la phase d'extinction. On pourra savoir si les insecticides agissent plutôt sur l'un ou l'autre des processus de mémorisation [33].

Au cours de l'essai, l'exposition de l'abeille à l'insecticide peut avoir lieu avant le conditionnement, de façon aiguë ou chronique ; cela mime la consommation de ressources contaminées à l'intérieur de la ruche par les ouvrières avant qu'elles ne butinent. Une exposition au cours de la phase de conditionnement est utile pour reproduire l'exposition de la butineuse au cours de ses visites florales lors de la consommation de nectar ou pollen contaminés. Cela permet de déterminer un éventuel effet répulsif de la substance testée. Si l'abeille est exposée après la phase de conditionnement cela permet d'évaluer les effets du produit sur la mémoire [33].

Comme pour les autres essais, il est nécessaire de standardiser le protocole et de choisir des groupes de contrôle afin de limiter au maximum la variabilité des résultats. Cela est particulièrement vrai pour le choix des sous-espèces, de la saison (abeilles d'été ou abeilles d'hiver), des conditions d'élevage et surtout de l'âge des abeilles testées car une jeune abeille et une butineuse ne présentent ni le même degré d'apprentissage, ni la même sensibilité aux pesticides [33].

Remarque : Le test de réponse d'extension du proboscis permet aussi d'apprécier les capacités gustatives de l'abeille. Le contact des antennes avec une solution sucrée provoque le réflexe d'extension du proboscis ; la capacité qu'a l'abeille à présenter ce réflexe est donc dépendante de ses capacités sensorielles gustatives [68].

Note f

Les effets sublétaux potentiels sur le comportement ou la physiologie de l'abeille sont innombrables. Autant les effets sur le comportement sont progressivement pris en compte dans le schéma d'évaluation du risque, autant les autres types d'effets sublétaux ne le sont pas du tout (jusqu'à présent) car il est difficile de disposer d'essais de routine fiables et standardisés pour les évaluer. Ils sont cependant grossièrement évalués lors des essais sous tunnel ou en plein-champ.

Note g

Dans les essais en cage, une petite colonie est placée au contact d'une culture en fleurs attractive (colza, phacélie, moutarde) traitée en présence des abeilles dans une enceinte fermée (filet). Les effets des pesticides sur plusieurs paramètres sont relevés au cours des sept jours suivant le traitement : mortalité, taille du couvain, importance des réserves, comportement, activité de butinage. Les essais sous tunnel sont basés sur le même principe (colonie placée dans une enceinte en forme de tunnel, cf. figure 20), ils sont particulièrement utiles pour observer les effets des pesticides sur les butineuses exposées à du miellat contaminé [83]. Dans ce type d'essai (et contrairement à un essai en plein champ) les abeilles ont l'obligation de fréquenter la culture traitée et n'ont aucune possibilité de fuite, ces conditions d'exposition extrême ne sont pas bien représentatives du comportement naturel de butinage de la colonie [102].

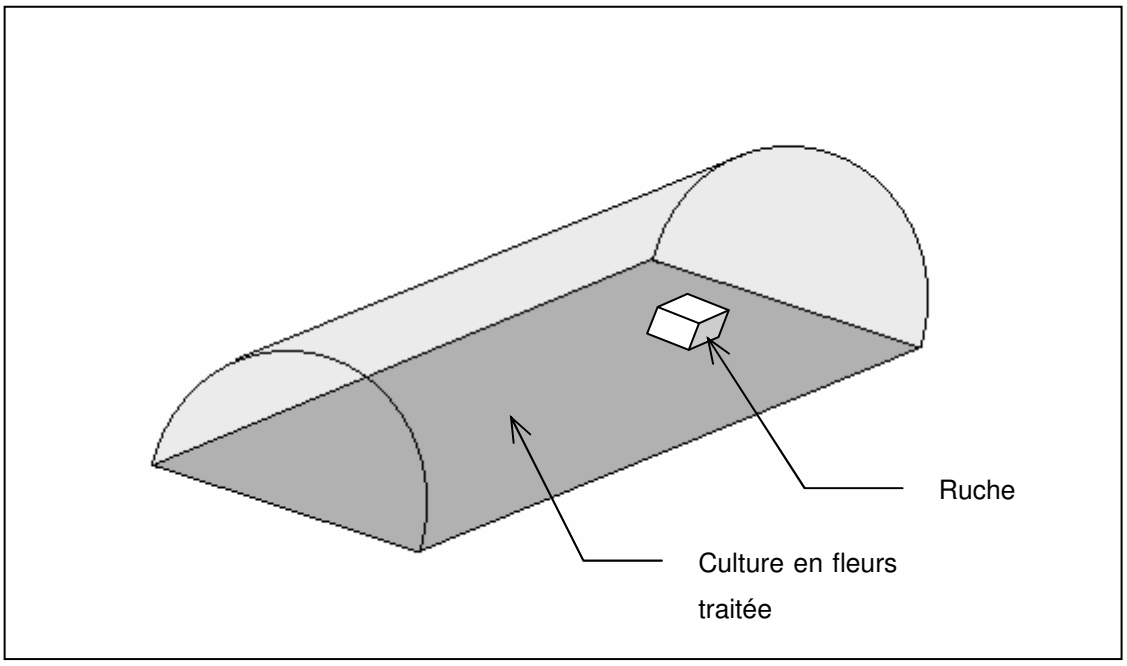


Figure 20 : Les essais sous tunnel.

Dans les essais en plein champ, une colonie assez forte (entre 10 000 et 15 000 abeilles) est placée en plein air dans un champ traité ou en bordure de celui-ci. Le produit doit être appliqué en présence d'abeilles, sur un champ en floraison et dans les conditions d'usage prévues (dose et culture). Les paramètres sont observés plus longtemps (jusqu'à 28 jours pour le couvain) et sont plus nombreux [83].

Les paramètres mesurés dans ces conditions sont difficiles à interpréter puisqu'on ne dispose pas de valeurs seuils ou de « valeurs usuelles ». Schmidt *et al.* proposent par exemple l'introduction d'indices simples afin de comparer objectivement la mortalité, l'activité de butinage ou la taille du couvain avant et après traitement et entre le lot traité et le lot témoin négatif [102].

Une analyse des résidus dans différents prélèvements (abeilles, nectar, pollen, miel) peut permettre une appréciation chiffrée de l'exposition réelle des colonies et apporter une aide indispensable en vue de l'évaluation du risque [58].

En conclusion, les essais de terrain apportent surtout une appréciation globale des effets des pesticides sur la colonie. Etant donné qu'ils se rapprochent au mieux de la réalité du

champ, ils sont utilisés en dernier recours pour évaluer au plus juste les effets létaux, sublétaux et sur le couvain. Le moindre contrôle des paramètres expérimentaux en rend cependant l'interprétation parfois délicate [113].

3.2.3. Etude de la toxicité des principaux insecticides

Dans cette partie, nous allons envisager à travers l'étude de quelques exemples les effets des principaux insecticides actuels sur l'abeille (toxicités aiguë, chronique et sublétale) en insistant plus particulièrement sur les insecticides systémiques, imidaclopride et fipronil. En effet, depuis une petite dizaine d'années la grande majorité des études portent sur la toxicologie de ces molécules accusées d'être responsables de nombreuses pertes de colonies par les apiculteurs français notamment.

Remarquons aussi qu'actuellement la toxicité sublétale suscite de plus en plus l'intérêt des toxicologues de l'abeille. Les effets sublétaux potentiels des pesticides sont un sujet très vaste : chaque substance peut provoquer potentiellement tout type d'effet que ce soit sur le comportement ou plus généralement sur la physiologie de l'abeille. Ce sont les effets des insecticides neurotoxiques sur le comportement qui sont les plus étudiés même s'il existe dans la littérature un grand nombre de publications détaillant la toxicité sublétale de telle ou telle molécule sur telle ou telle fonction au sein de la colonie d'abeilles (division du travail, développement de la colonie, phénomènes d'apprentissage et de communication, comportement des larves etc.) ; l'article de Thompson (2003) fournit une revue complète de celles-ci [125].

3.2.3.1. Organophosphorés et carbamates

- Toxicité aiguë

La grande majorité des insecticides organophosphorés et des carbamates sont classés très toxiques pour les abeilles, avec des DL50 inférieures à 2 µg/abeille [2, 61].

- Toxicité chronique

Les organophosphorés sont toxiques par ingestion chronique. L'étude de Fiedler (1987) a démontré que les effets létaux chroniques pouvaient se manifester à partir de très faibles doses

comparées au DL50 ; par exemple, pour l'acéphate, une dose représentant à peine 5% de la DL50 ingérée tous les jours provoque une mortalité cumulée de 67% des abeilles après 14 jours d'exposition. L'explication possible de ces résultats serait l'effet cumulatif des insecticides à faible dose, même si le lien entre toxicité aiguë et chronique n'est pas facile à établir [47]. Autre exemple : le diméthoate qui, à une dose 20 fois inférieure à la DL50, ingérée quotidiennement, peut induire une mortalité significative (28%) par rapport au témoin négatif [36].

- Toxicité sublétale

Quelques études se sont penchées sur la toxicité sublétale des organophosphorés. Guez *et al.* ont constaté que l'activité de butinage des abeilles exposées au méthyl-parathion à des doses largement inférieures à la DL50 était fortement perturbée [56]. L'exécution des danses par les butineuses au retour à la ruche peut être modifiée après une exposition orale à des doses sublétale de parathion. Les abeilles traitées réalisent bien une danse oscillante mais avec un angle modifié. L'information transmise aux autres ouvrières est alors erronée. La vitesse de vol est aussi plus rapide chez les abeilles traitées [105].

3.2.3.2. Pyréthrinoïdes

- Toxicité aiguë

Ils agissent en général à très faibles doses et sont très toxiques pour l'abeille. Les DL50 sont largement inférieures au microgramme par abeille pour la plupart d'entre eux. Par exemple, le Décis®, préparation commerciale à base de deltaméthrine a une DL50 (48 heures) de 0,01 µg/abeille par contact et une DL50 (48 heures) de 0,28 µg/abeille par voie orale [61].

- Toxicité sublétale

Il a été démontré par un essai sous tunnel que la deltaméthrine pouvait perturber le comportement de vol des butineuses qui mettaient plus de temps pour retourner à la ruche après traitement [132].

Mais les insecticides de cette famille ont aussi des effets sur l'apprentissage olfactif. En 1987, Taylor *et al.* étudient les réponses au conditionnement olfactif d'ouvrières après exposition par contact à des doses sublétales de plusieurs pyréthroïdes. Ils démontrent

clairement que ces insecticides réduisent (plus ou moins selon les molécules) le degré d'apprentissage olfactif des abeilles. Plutôt que l'effet répulsif des cultures traitées, la diminution de l'apprentissage olfactif pourrait expliquer selon eux l'absence transitoire de butineuses dans les cultures traitées aux pyréthroïdes [123].

En 2005, Decourtye *et al.* mènent également une étude comparative sur les effets de neufs pesticides dont certains pyréthroïdes (deltaméthrine, lambda-cyhalothrine, cyperméthrine, tau-fluvalinate) sur l'apprentissage olfactif. L'exposition est chronique (onze jours à trois doses différentes, largement inférieures aux DL50) par voie orale avant le conditionnement. Cette approche est intéressante car l'utilisation des trois doses différentes permet l'obtention d'une relation dose-réponse ainsi que la détermination de concentrations sans effet (NOEC) et de doses sans effet. Parmi les pyréthroïdes testés, seule la deltaméthrine, présente des effets sublétaux sur l'apprentissage olfactif en agissant au cours de la phase d'acquisition, sur le stockage de l'information [36].

3.2.3.3. Régulateurs de croissance

Les effets des régulateurs de croissance des insectes sont totalement différents des insecticides neurotoxiques puisqu'ils se manifestent essentiellement sur le couvain. Peu toxiques pour les adultes (DL50 élevées) [61] ils peuvent cependant se révéler toxiques au niveau sublétal avec des effets multiples et inattendus.

- Toxicité sur le couvain

Parmi les IGR, le fénoxycarbe est l'un des plus toxiques pour le couvain d'abeilles. Il est à ce titre souvent utilisé comme traitement de référence dans les essais. Le diflubenzuron (un inhibiteur de synthèse de chitine) présente aussi une toxicité marquée sur le couvain. Il provoque de plus une baisse de la ponte de la reine. Certains autres sont moins dangereux pour l'abeille car ils sont doués d'une forte sélectivité pour espèces cibles (azadirachtine, tebufenoside) [70, 126].

- Toxicité sublétale

Gupta et Chandel (1995) ont étudié au laboratoire les effets sur les ouvrières adultes du diflubenzuron ; celui-ci provoque une prise de poids moins importante ainsi qu'un défaut de

développement des glandes hypopharyngiennes chez les jeunes abeilles, et une perte de poids chez les butineuses [57].

Thompson *et al*. (2005) s'intéressent aussi à certains effets sublétaux des IGR, sur la production de sperme des mâles, l'aptitude des reines à la fécondation et à la ponte. Cette longue et complète étude a été réalisée avec une molécule de chaque classe d'IGR : le fénoxycarbe (analogue de l'hormone juvénile), le diflubenzuron (inhibiteur de la synthèse de chitine), l'azadirachtine (inhibiteur de la synthèse d'ecdysone) et le tebufenoside (agoniste de l'ecdysone). Les colonies d'abeilles étaient exposées aux insecticides par voie orale grâce à la mise en place dans la ruche d'une solution sucrée contaminée pendant une semaine. Le fénoxycarbe s'est révélé capable de perturber la reproduction de la colonie par son action sur les reines : aucune reine ayant reçu le traitement n'a été fécondée et chacune présentait des caractéristiques de reine vierge. Cet insecticide est ainsi peut-être encore plus dangereux par ses effets sur les adultes (vieillissement précoce et longévité diminuée) que par ses effets directs sur le couvain. Aucune des molécules testées n'a eu d'effet délétère sur la production de sperme par les mâles. Cette étude représente cependant un « pire-cas » d'exposition, destiné à montrer des effets possibles, reste à confirmer si le risque est bien réel lors d'études en plein champ [126].

3.2.3.4. Imidaclopride

- Toxicité aiguë

En toxicité aiguë, les DL50 de l'imidaclopride sont très faibles que ce soit par contact (entre 6,7 et 240 ng/abeille) ou par voie orale (de 4 à 71 ng/abeille selon les études) [41, 115]. C'est un exemple qui illustre bien les variabilités inter-laboratoire et intra-laboratoire des résultats. Quoi qu'il en soit, cet insecticide est parmi les plus toxiques pour l'abeille.

L'imidaclopride est transformé après application dans la plante en de nombreux métabolites dont deux ont une toxicité importante proche de celle de la molécule mère : le dérivé 5-hydroxyimidaclopride, qui est quatre à six fois moins toxique que l'imidaclopride, et l'oléfine dont la DL50 est plus basse que l'imidaclopride [116].

Ceci est l'un des aspects importants de la toxicologie des systémiques et de l'imidaclopride en particulier puisqu'il faut toujours considérer ensemble l'action de la molécule mère et celle des métabolites les plus toxiques. Ce phénomène peut expliquer quelques caractéristiques inhabituelles de la toxicité aiguë de cet insecticide. En effet, alors que les symptômes d'intoxication apparaissent assez rapidement après l'exposition les premières mortalités ne sont observées que quatre heures après. De plus la relation dose-mortalité décrit une courbe biphasique inhabituelle (essentiellement après une exposition par contact) [115, 116].

- Toxicité chronique

La forte persistance de l'imidaclopride dans les végétaux traités conduit à une possible exposition chronique des abeilles au nectar contaminé. Quelques études ont donc cherché à démontrer les effets d'une telle exposition.

Le travail de Suchail *et al.* a évalué les effets chroniques de l'ingestion pendant dix jours d'imidaclopride et de ses métabolites à des concentrations retrouvées dans le nectar de fleurs traitées. Il démontre que l'imidaclopride et tous ses métabolites se révèlent toxiques pour l'abeille à très faibles doses (0,01, 0,1 et 1 ng/abeille), largement inférieures aux DL50 de toxicité aiguë. Cette grande différence entre les toxicités chronique et aiguë reste difficilement explicable sans la connaissance plus précise du métabolisme, du mode d'action ou des phénomènes d'accumulation de ces composés chez l'abeille [116].

Ces résultats seraient donc en faveur de possibles graves effets des traitements systémiques à base d'imidaclopride sur les populations d'abeilles, avec des mortalités élevées suite à l'ingestion chronique de faibles doses présentes dans le nectar des fleurs butinées. Cependant le sujet de la toxicité chronique de l'imidaclopride fait débat ; l'étude de Suchail *et al.* est la seule parmi d'autres du même type à obtenir des résultats de toxicité chronique à des doses si faibles. Schmuck, qui a effectué une étude comparable sur les métabolites de l'imidaclopride, la met d'ailleurs fortement en doute [104].

De toute façon, même si beaucoup d'études ont été consacrées à la toxicité chronique des insecticides, elles sont toutes difficilement comparables du fait de l'absence de protocole standardisé. Le cas de l'imidaclopride est représentatif de ce problème que nous évoquerons plus tard [41].

- Toxicité sublétale

Un grand nombre d'études de laboratoire ont tenté d'apprécier les effets sublétaux de l'imidaclopride sur le comportement des abeilles. En premier lieu, l'imidaclopride, à des doses n'entraînant aucune mortalité, semble modifier l'activité motrice d'abeilles placées en cage. Medrzycki *et al.* (2003), en analysant et comparant le type de mouvements d'ouvrières traitées ou non par voie orale et placées dans une cage d'observation, a démontré que de très faibles doses d'imidaclopride pouvaient diminuer la mobilité et perturber la coordination et la communication au sein du groupe d'abeilles. Ces effets négatifs sur le comportement apparaissent entre 30 et 60 minutes après l'ingestion et disparaissent quelques heures après l'ingestion [76]. Un précédent essai de Lambin *et al.* (2001) avait montré des effets contraires selon la dose administrée par contact : une augmentation de l'activité motrice à faible dose (1,25 ng/abeille) et une diminution à doses plus fortes (de 2,5 à 20 ng/abeille) [68]. L'ingestion de faibles doses d'imidaclopride lors du butinage pourrait ainsi perturber le retour à la ruche et donc le fonctionnement de toute la colonie.

L'activité des butineuses (visites et retour à la ruche) peut aussi être altérée après exposition à des doses sublétales d'imidaclopride par voie orale (100, 500 et 1000 ppb). C'est ce que démontre l'expérience de Bortolotti *et al.* en 2003, menée en conditions naturelles. En effet, les abeilles ayant ingéré la solution sucrée contaminée à 500 et 1000 ppb ne sont ni retournées à la ruche, ni au nourrisseur ; elles ont disparu. Ce n'est pas le cas de celles qui ont reçu la plus faible dose qui sont retrouvées à la ruche et au nourrisseur mais avec du retard par rapport aux abeilles du lot témoin négatif. Dans cette étude les abeilles étaient maintenues en captivité pendant une heure après l'exposition afin de laisser agir l'imidaclopride. Cela signifie que des concentrations supérieures à 100 ppb d'imidaclopride pourraient perturber l'activité de butinage des abeilles si celles-ci sont dans l'impossibilité de retourner immédiatement à la ruche [9]. L'expérience de Decourtye *et al.* (2001) rapportait déjà une diminution de l'activité de vol des butineuses d'une colonie en présence pendant plusieurs jours d'un nourrisseur contenant de l'imidaclopride [32]. Il est à noter que ces études mettent seulement en évidence des effets possibles (valeur qualitative), elles ne présument en rien de l'exposition réelle des abeilles au champ.

Ce sont les effets de l'imidaclopride sur le phénomène d'apprentissage olfactif chez l'abeille qui ont fait récemment l'objet de nombreuses publications. L'apprentissage olfactif

est altéré après ingestion d'imidaclopride à des doses sublétales (24 ppb), à la fois lors d'un essai en cage et lors d'essais au laboratoire [32, 35]. A ce sujet, les performances de l'abeille sont également altérées après l'ingestion chronique d'imidaclopride à des doses sublétales (inférieures de 3 à 30 fois à la DL50) [36]. L'imidaclopride par voie topique provoque aussi une baisse de la sensibilité gustative à des doses supérieures ou égales à 5 ng/abeille [68].

En résumé et concernant la toxicité de l'imidaclopride, nous avons vu qu'il était l'un des insecticides les plus toxiques pour l'abeille. Les nombreux essais soulignent également ses effets sublétaux à très faibles doses sur la coordination motrice, l'activité de vol, l'apprentissage olfactif, la sensibilité gustative et le butinage. Cependant, malgré le nombre importants d'études disponibles, le profil toxicologique de cet insecticide (en particulier au niveau larvaire) est encore globalement méconnu.

3.2.3.5. Fipronil

- Toxicité aiguë

Le fipronil possède lui aussi des DL50 très basses, comparables à celles de l'imidaclopride : 4,17 ng/abeille par contact (48 heures) et 5,93 ng/abeille par voie orale (48 heures) [61]. La DL50 à 72 heures est plus faible que les DL 50 à 24 heures et 48 heures : des effets importants peuvent donc se manifester jusqu'à plusieurs jours après l'exposition. Malgré le peu de données disponibles au sujet des métabolites du fipronil, l'un d'entre eux (le composé MB46136) semble pourtant avoir une toxicité aiguë comparable à celle de la molécule mère [58].

- Toxicité chronique

Dans l'étude de Decourtye *et al.* (2005) l'ingestion chronique pendant onze jours de fipronil à une dose 20 fois inférieure à la DL50 provoque plus de 90% de mortalité. Il s'agit d'une des premières expériences démontrant les effets létaux chroniques de cet insecticide à très faibles doses [36].

Peu d'études complètes au laboratoire ou sous tunnel sont cependant disponibles pour caractériser la toxicité chronique du fipronil et de ses métabolites ; une NOEC de 8 pg de

fipronil ou de ses métabolites par abeille sur 10 jours est actuellement retenue ; cette valeur serait là encore comparable à celle de l'imidaclopride [58].

- Toxicité sublétale

Récemment, de nombreuses études ont évalué la toxicité sublétale du fipronil selon différents protocoles. El Hassani *et al.* analysent les mouvements d'abeilles placées en cagettes d'observation. Dans cet essai le fipronil aux doses testées (la dose maximale étant de 1 ng/abeille, soit 5 fois moins que la DL50) n'entraîne aucune altération de l'activité motrice, quelle que soit la voie d'administration [42].

Le fipronil semble par contre altérer l'apprentissage olfactif à des doses sublétales. Ses effets sont plus marqués par contact que par voie orale ; comme pour l'imidaclopride [68] il n'y a pas de relation doses réponse bien claire [42]. Mais il semble exercer un effet à très faibles doses avec une dose sans effet de 0,07 ng/abeille/jour, soit 80 fois moins que la DL50. Il semble agir au cours de la phase d'extinction, donc plutôt sur les facultés de mémorisation à long terme et de restitution de l'information [36].

Des essais sous tunnel et en plein champ ont été menés pour compléter l'évaluation des effets du fipronil sur le comportement des abeilles. Certaines études (colonies placées sous tunnel au contact de tournesol traité Régent TS ®) mettent ainsi en évidence des signes cliniques d'intoxication c'est-à-dire des abeilles tombantes, des convulsions, un comportement de toilettage excessif. Ce type d'essai n'apporte que des éléments qualitatifs puisqu'il est impossible de connaître la dose réelle d'exposition des abeilles (absence d'analyse de résidus dans le nectar et le pollen) [58].

En résumé, l'imidaclopride et le fipronil sont très toxiques pour l'abeille. Leurs DL50 sont très faibles, et même à des doses largement inférieures à celles-ci le comportement des abeilles (l'activité motrice, le vol, l'orientation et les phénomènes d'apprentissage olfactif) peut être perturbé. Reste à savoir maintenant quelles sont les doses auxquelles sont exposées les colonies pour pouvoir apprécier le risque.

3.2.4. Les données d'exposition et l'évaluation du risque abeilles

Pour l'évaluation du risque abeille les données d'exposition peuvent être estimées de plusieurs manières : l'approche classique (valable pour la plupart des insecticides utilisés en pulvérisation) utilise les doses épandues à l'hectare ; l'approche PEC/PNEC procède à une évaluation plus fine et plus complexe, elle est utile notamment pour les insecticides systémiques en traitement des semences.

3.2.4.1. L'approche classique réglementaire européenne

C'est la méthode d'évaluation du risque utilisée en routine dans les pays de l'Union Européenne. Selon la directive 96/12 elle est obligatoire sauf quand l'exposition des abeilles est improbable (par exemple pour les traitements des denrées alimentaires en espace clos, le traitement non systémique des semences ou du sol etc.). Remarquons cependant qu'une substance systémique appliquée en traitement du sol ou des semences peut (elle-même ou ses métabolites) être retrouvée dans le nectar ou le pollen et donc conduire à une exposition des butineuses [21].

Dans le cas d'une substance appliquée en pulvérisation il convient d'évaluer l'exposition hors-champ, par dérive des brumes de pulvérisation ; de même dans le cas de l'exposition *via* des poussières générées lors du semis de semences pelliculées ou lors de l'épandage de granules ou d'un poudrage. Ces études e font au cas par cas, sans protocole standardisé [113].

Nous avons vu dans la description des essais que pour raisonner l'approche d'évaluation du risque l'OEPP avait établi un schéma décisionnel qui hiérarchise les différents essais d'évaluation de la toxicité (cf. figure 21) [84]. En effet, tous les types de tests ne sont pas systématiquement effectués, les essais en plein champ, longs et coûteux, n'étant requis que pour préciser la toxicité des certaines molécules si les essais de laboratoire ou en cage se révèlent insuffisants.

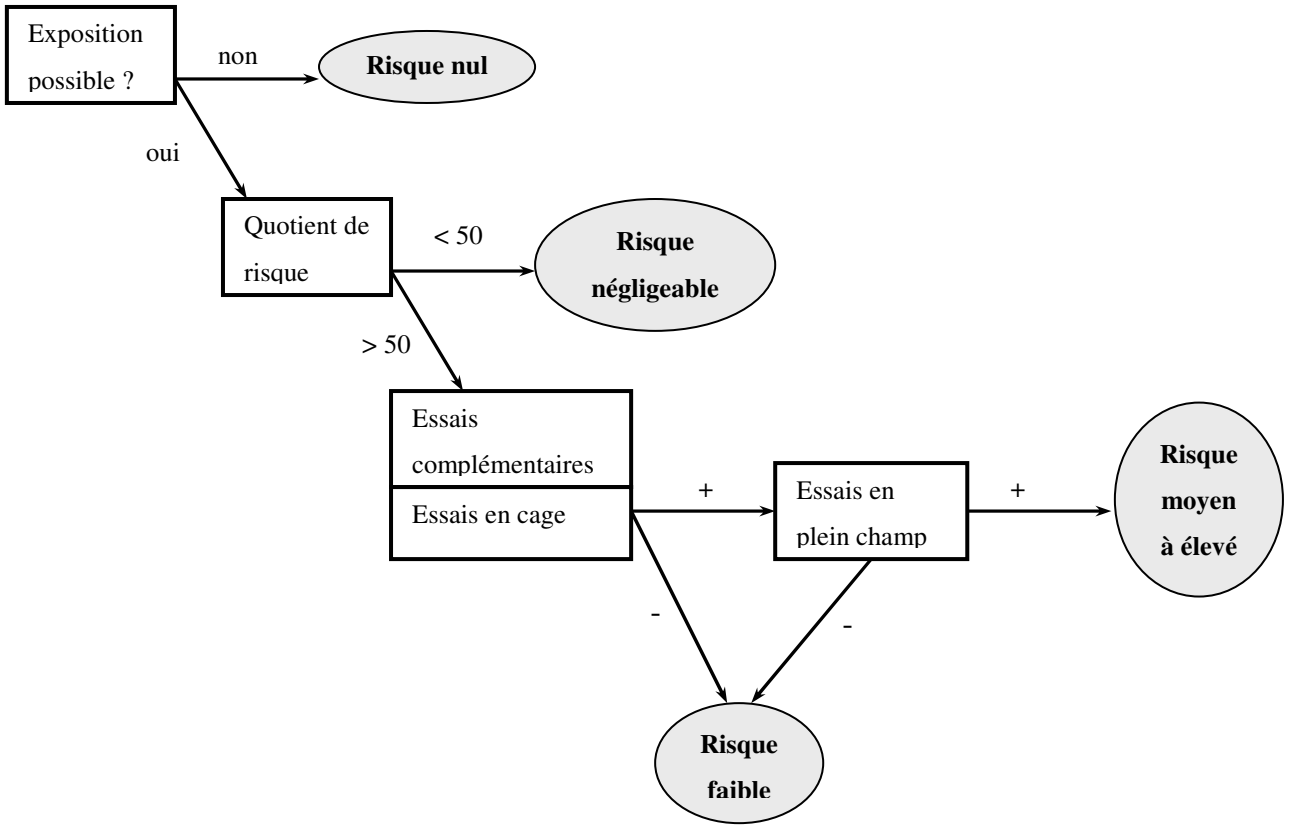


Figure 21 : Le schéma OEPP simplifié.

+ : mise en évidence d'effets néfastes significatifs
- : absence d'effets néfastes significatifs

Source : [84]

A l'heure actuelle et conformément aux directives européennes basées sur le schéma OEPP, le risque abeilles des produits phytosanitaires est caractérisé grâce à un quotient de risque [84] ; il s'agit d'un rapport qui confronte les données de toxicité aiguë obtenues au laboratoire aux données d'exposition représentées par les doses d'application du produit. On calcule un quotient de risque « contact » (QRc) et un quotient de risque « voie orale » (QRo) pour les substances actives (SA) :

$$QRo = \frac{dose(g\,SA/ha)}{DL50\,orale(\mu g\,SA/abeille)}$$

$$QRc = \frac{dose(g\,SA/ha)}{DL50\,contact(\mu g\,SA/abeille)}$$

Les valeurs de DL50 choisies sont les plus faibles déterminées au laboratoire et ce sont les doses d'application relatives aux usages demandés qui sont retenues. Les quotients de risque peuvent être aussi calculés à partir de données sur la préparation, par exemple si celle-ci comporte plusieurs substances actives.

La valeur seuil a été fixée à 50. Si l'un de ces rapports excède cette valeur, d'autres essais sont requis afin de préciser le risque. Pour chaque substance active et préparation ce sont donc les valeurs des deux quotients de risque (contact et voie orale) qui conditionnent la réalisation d'essais supplémentaires sur le risque envers les larves, le comportement et le développement de la colonie [24, 84].

Le principe du calcul de ces quotients ainsi que la valeur seuil retenue ont été déterminés empiriquement, en se basant sur des molécules dont l'impact sur les abeilles était bien connu. En effet, avant l'apparition de molécules agissant à faibles doses (c'est-à-dire les pyréthroïdes) le risque des insecticides pour l'abeille était grossièrement et directement déduit des valeurs de toxicité aiguë du laboratoire. Smart et Stevenson (1982) ont couplé les valeurs de toxicité aux doses d'application ; ils ont constaté que les pyréthroïdes bien qu'agissant à faible dose présentent un quotient de risque inférieur à certaines autres molécules (organophosphorés principalement). Les molécules réputées les moins dangereuses pour l'abeille (phosalone par exemple) ont des quotients de risque voisins de 50 [111].

La caractérisation du risque par cette méthode n'est valable que pour les insecticides appliqués par pulvérisation sur les parties aériennes. De plus, l'estimation de l'exposition est grossière puisqu'elle n'utilise que les doses épandues à l'hectare. Enfin seuls les effets létaux sont considérés. Or, certaines molécules et particulièrement les insecticides systémiques type imidaclopride ont des effets sublétaux à très faibles doses [113].

3.2.4.2. L'approche PEC/PNEC

La précédente approche ne peut pas s'appliquer aux insecticides systémiques en traitement des semences notamment car elle est basée sur l'utilisation de doses épandues à l'hectare, qui n'ont pas de sens réel dans ce cas. En effet, les abeilles sont exposées à ce type d'insecticide *via* l'ingestion de pollen ou nectar contaminé suite à la migration des substances

actives dans toutes les parties de la plante. Il convient donc de développer de nouvelles approches pour affiner l'estimation de l'exposition [59].

La méthode de Villa *et al.* (2000) permet par exemple de prendre en compte le comportement de la substance dans l'environnement et la plante jusqu'au pollen ; l'évaluation du risque se fait grâce au calcul d'un TER (Toxicity Exposure Ratio) qui confronte ces données d'exposition aux données de toxicité aiguë [134].

L'approche PEC/PNEC est plus appropriée que le calcul des TER car elle permet l'évaluation du risque à la fois à l'échelle de l'individu et de la colonie. C'est cette méthode, habituellement utilisée pour la protection des écosystèmes, qui est employée en France pour l'évaluation du risque abeilles des produits systémiques. Elle consiste à comparer une concentration prédite d'exposition (PEC pour Predicted Environmental Concentration) à une concentration prévue sans effet pour les organismes de l'environnement (PNEC pour Predicted No Effect Concentration) [59].

L'estimation de l'exposition des abeilles (PEC) se base sur :

- la connaissance des concentrations d'insecticides présentes dans le nectar et le pollen consommés par les abeilles. Ces données sont obtenues grâce à l'analyse des résidus (technique de chromatographie HPLC couplée à la spectrométrie de masse) autorisant des limites de détection et quantification suffisamment basses.
- l'estimation des quantités de nectar et pollen consommées par les abeilles de la ruche. Les données de la littérature permettent d'estimer les quantités de pollen et/ou sucre effectivement consommées par toutes les catégories d'abeilles de la ruche : larves (d'ouvrières et de mâles), abeilles d'intérieur (nourrices, cirières), butineuses et abeilles d'hiver [98].

La PNEC est évaluée à partir des données de toxicités aiguë, chronique et sublétale (DL50, NOEC, LOEC) auxquelles est associé un facteur d'incertitude prenant en compte les variations intra- et inter-laboratoire ainsi que l'extrapolation. Ce facteur d'incertitude varie entre 10 et 1000 selon les données disponibles [59].

Le rapport PEC/PNEC est calculé pour toutes les catégories d'abeilles de la colonie, en utilisant tous les scénarios d'exposition. Il y a risque si ce rapport est supérieur à 1 (cf. figure 22) [59].

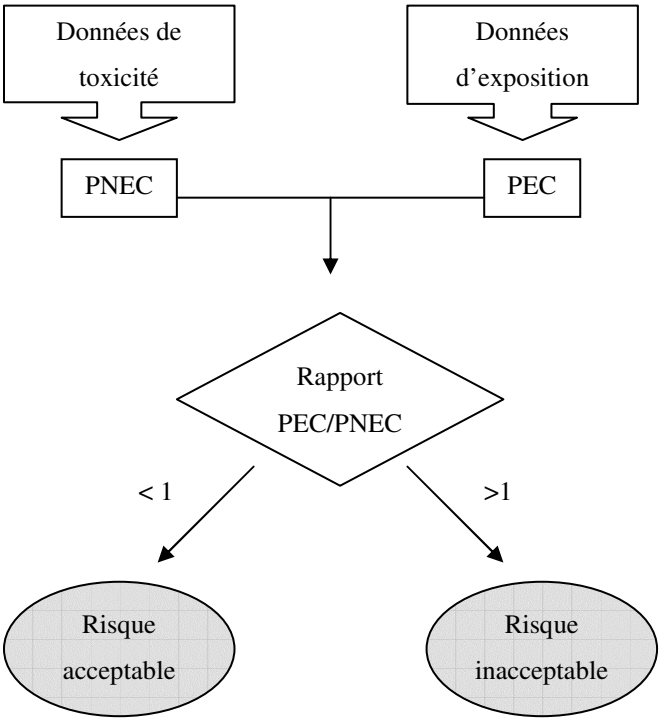


Figure 22 : L'approche PEC/PNEC pour l'évaluation du risque des pesticides.

Nous allons donner un exemple afin d'illustrer cette méthode d'évaluation du risque. Considérons un scénario d'exposition particulier : le risque lié à l'ingestion par les abeilles d'intérieur de pollen de tournesol contaminé par l'imidaclopride. En admettant qu'une abeille consomme 60 mg de pollen au cours de ses dix premiers jours de vie et que 90% du pollen ingéré est contaminé à hauteur de 3,35 ppb, cette abeille va ingérer donc 181 pg d'imidaclopride (PEC). Si la DL50 à 10 jours est évaluée 0,012 ng/abeille, en considérant un facteur de sécurité de 10, la PNEC obtenue est de 1,2 pg/abeille. Le rapport PEC/PNEC est égal à 181/1,2 soit 151, ce qui indique un risque d'intoxication pour ce scénario [41].

Cette approche fait donc intervenir ce que l'on appelle des « scenarii d'exposition », qui permettent une estimation beaucoup plus fine. Il est possible de calculer un rapport PEC/PNEC pour chaque scénario et d'utiliser les toutes données de toxicité à disposition

(aiguë bien sûr mais aussi chronique et sublétale). Cette méthode, si elle est indispensable pour l'évaluation du risque des insecticides systémiques utilisés en traitement des semences (pour lesquels l'utilisation des doses par hectare est un non-sens), peut être employée pour tout type d'insecticides [59, 113].

Que ce soit par l'approche classique ou par l'approche PEC/PNEC l'évaluation du risque vise à définir si celui-ci est nul, faible, moyen ou élevé, ce qui permet de mettre en place la gestion du risque par des mesures préventives.

3.3. Mesures préventives et gestion du risque

Les accidents dus aux insecticides ne peuvent être totalement éradiqués mais nous avos vu que leur incidence avait heureusement grandement diminué au cours des dernières années. Cela est dû à la conjonction de plusieurs facteurs : la meilleure connaissance des propriétés des molécules, la mise au point constante de nouvelles molécules et de formulations toujours plus spécifiques et dénuées le plus possibles d'effets indésirables. Ces progrès scientifiques ont conduit à l'amélioration de la réglementation sur la mise sur le marché et l'application des produits phytosanitaires. L'émergence du concept de lutte intégrée qui fait appel à des moyens prophylactiques, biologiques permet de limiter l'utilisation systématique et généralisée des insecticides. Considérons que toutes ces notions font partie de la prévention au sens large.

La première mesure préventive consiste donc à disposer d'une évaluation du risque performante qui permet la mise en place de mesures de gestion du risque efficaces. Sur le plan réglementaire, une fois ce risque évalué comme acceptable ou inacceptable (en France, par des structures comme la commission d'étude de la toxicité par exemple), il convient au gestionnaire du risque de prendre des mesures de protection plus ou moins strictes afin de protéger l'abeille : interdire les applications en floraison par exemple, ou restreindre l'usage de tel ou tel produit, c'est ce qu'a fait le Ministre dans l'affaire Gaucho ®/Régent ® (cf. partie 3.4).

En France, le législateur a réglementé l'application des insecticides et acaricides en vue de protéger les abeilles et les autres insectes pollinisateurs. C'est « la mention abeilles » qui

fait l'objet de l'arrêté ministériel du 28 novembre 2003 remplaçant l'arrêté du 25 février 1975. Il s'agit d'une mesure supplémentaire de protection prise dans le contexte récent de la polémique des insecticides systémiques. D'après l'article 2, le traitement au moyen d'insecticides ou d'acaricides de végétaux visités par des insectes pollinisateurs est interdit pendant la période de floraison ou de production d'exsudats. L'article 3 précise que les plantes adventices des cultures traitées doivent être détruites ou rendues non attractives pour les abeilles. Les insecticides ou acaricides dont il est prouvé par des études appropriées que leur impact sur les abeilles est acceptable peuvent bénéficier de la mention abeilles, c'est-à-dire être appliqués pendant la floraison et/ou la période de production des exsudats mais en dehors de la présence des abeilles. Ce nouveau texte oblige donc à appliquer ces produits tard le soir ou tôt le matin de façon à éviter un contact direct des butineuses lors de l'épandage [77].

De façon plus générale, le respect de quelques mesures simples peut contribuer à réduire le risque. Tout d'abord, il faut limiter au maximum les traitements des parcelles pendant la floraison ou la production de miellat ; même recommandation lorsque les plantes adventices qu'elles contiennent sont en fleurs. Quand le traitement en floraison ne peut être évité il doit être réalisé avec le produit le moins dangereux possible [64].

Le moment du traitement est primordial : il faut favoriser les applications en l'absence des butineuses, c'est-à-dire le soir ou très tôt le matin (les traitements de nuit divisent la mortalité des abeilles par deux [2]). Le moment optimal de l'application dépend aussi de la rémanence, certains produits persistent quelques heures seulement et, en cas d'un traitement de nuit, auront disparu le matin suivant. Les épandages aériens favorisent une grande dispersion, ils doivent être réalisés obligatoirement en l'absence des butineuses. Les pulvérisateurs doivent être correctement réglés [64].

Les produits doivent être appliqués en respectant les mentions portées sur l'étiquette, à savoir la dose à l'hectare, le moment et la fréquence des applications selon le ravageur visé. Il faut faire particulièrement attention aux formulations très persistantes (micro-encapsulées par exemple) et à certains mélanges (association pyréthroïde et fongicide) qui sont dangereux pour les abeilles. L'épandage doit se faire dans des conditions climatiques favorables (vitesse du vent inférieure à 4 m/s) [114].

L'usage de substances répulsives afin d'éloigner les butineuses des champs traités pourrait être intéressant. De nombreuses molécules ont été testées mais les facteurs de variation de l'effet répulsif sont nombreux, les applications concrètes encore inenvisageables [75].

De leur côté les apiculteurs peuvent agir : identification très lisible des ruches dans les cultures, protection des ruches et déplacement éventuel lors de l'épandage. Enfin, dans l'intérêt de chacun, la coopération et la communication entre apiculteurs et agriculteurs est nécessaire, ils doivent travailler ensemble afin de réduire au maximum le risque d'accidents [2].

3.4. Analyse des phénomènes d'affaiblissements des colonies d'abeilles

Depuis le milieu des années 1990 les apiculteurs déplorent un affaiblissement de leurs colonies et mettent en avant la responsabilité des insecticides systémiques récemment mis sur le marché sur tournesol et maïs notamment. Nous allons analyser les faits ainsi que les interrogations soulevées par ce dossier qui a fait souvent la une des actualités.

3.4.1. Premières observations au milieu des années 90

A partir des années 1994-1995, les apiculteurs français de la région Centre exploitant les miellées de tournesol constatent dès le début de la floraison des troubles au sein de leurs colonies : dépopulation et mortalité, les abeilles étant retrouvées mortes à proximité des ruches ou disparaissant au champ. Parallèlement les apiculteurs observent sur le terrain, lors de la floraison du tournesol, des symptômes évocateurs d'une intoxication : tremblements, désorientation des butineuses, comportements anormaux (en particulier « filtrage » au trou de vol : occupation du trou de vol avec des abeilles qui « se traînent » anormalement). Au champ, les troubles du butinage constatés vont dans le même sens [133].

En conséquence, la production de miel de tournesol, habituellement importante dans cette région, diminue fortement puisqu'elle se situe en 1999 à seulement 53% de ce qu'elle était en moyenne entre 1988 et 1994 [18]. Dans le sud de la Vendée, la chute est encore plus marquée avec une baisse de 40% dès l'année 1996 [133].

Ce phénomène semble ne toucher que les ruches engagées sur cultures de tournesol, les colonies provenant du même cheptel mais amenées dans un environnement différent (toutes fleurs, lavande ou châtaignier par exemple) n'étant pas touchées. Les troubles se manifestent également par une forte augmentation de la mortalité hivernale [133].

3.4.2. La mise en cause du Gaucho ® et l'expertise imidaclopride

L'apparition brutale et localisée ainsi que les symptômes observés conduisent logiquement les apiculteurs à suspecter une intoxication d'autant plus que cela coïncide avec les premières utilisations du Gaucho® (substance active : imidaclopride) en enrobage des semences de tournesol [133].

En France, l'imidaclopride en tant que traitement des semences (Gaucho®) obtient ses premières homologations au début des années 1990 :

- 1991 : premières homologations du Gaucho® sur les cultures de betteraves et maïs,
- 1993 : homologation du Gaucho® pour les semences de tournesol,
- 1994 : premières utilisations du Gaucho® sur tournesol.

Pour ces homologations seules les données de toxicité aiguë (DL50) par contact ou voie orale furent examinées [27, 127].

L'imidaclopride est commercialisé dans plus de 70 pays et est utilisé sur différentes cultures dont le tournesol. Des troubles du même ordre seraient signalés dans d'autres pays (Italie ou sur le continent américain) mais les données manquent [5, 9, 130]. En Belgique des mortalités inexpliquées associées à des comportements inhabituels ont également été constatées [69].

En 1995, seules les données de toxicité aiguë sont établies pour l'homologation. A la suite des premières suspicions des apiculteurs, la société Bayer conduit des études sous tunnel au cours desquelles aucun effet sur les abeilles n'est observé [27]. A l'époque, les premières méthodes d'analyse de résidus de Bayer (sensibilité entre 20 et 50 ppb) n'avaient pas les limites de détection actuelles ; aucune trace d'imidaclopride n'était détectée dans le nectar ou le pollen des fleurs de tournesol, l'exposition des abeilles semblait donc improbable [7]. C'est en 1997 que les pouvoirs publics prennent l'affaire au sérieux ; cependant la commission

d'étude de toxicité ne peut affirmer que le Gaucho ® est bien responsable des troubles observés. Des données supplémentaires sont alors nécessaires, tant sur le plan analytique (présence de résidus dans la plante) que toxicologique (effets à faibles doses) [127].

Entre 1998 et 2000, l'amélioration des méthodes analytiques autorise la détection de très faibles quantités de résidus d'imidaclopride. Il est ainsi démontré, contrairement aux premières études de Bayer, que l'imidaclopride est bien présent à très faible dose dans le nectar et le pollen des fleurs de tournesol ; sa forte persistance dans les sols est avérée. Ses effets à très faibles doses se précisent [7].

En conséquence, par application du principe de précaution, le Ministre de l'Agriculture prononce en janvier 1999 la suspension provisoire de l'AMM du Gaucho ® en traitement des semences de tournesol sur l'ensemble du territoire national. La requête en annulation de cette décision de Bayer est rejetée par le Conseil d'Etat fin 1999. L'enquête épidémiologique menée à la suite ne débouche sur aucun résultat précis [127].

En 2001 puis en 2003 la suspension du Gaucho ® en traitement des semences tournesol est reconduite par le Ministre, qui ordonne par ailleurs la mise en place d'un comité de pilotage (différents intervenants de toutes les parties concernées) soutenu par un comité scientifique et technique (CST) chargé d'une analyse multifactorielle des troubles de l'abeille.

Afin d'évaluer le risque pour les abeilles du Gaucho ® en enrobage de semences de tournesol et de maïs le CST utilise l'approche PEC/PNEC. Son rapport final publié en septembre 2003 conclut à des « rapports PEC/PNEC préoccupants ». L'exposition des abeilles aux résidus d'imidaclopride présents dans le nectar de tournesol et dans les pollens de tournesol et maïs conduit à « un risque significatif ». Selon les scenarii d'exposition retenus par le CST, le risque existe à la fois pour les butineuses (ingestion de pollen lors de la confection des pelotes) mais aussi et surtout pour les abeilles d'intérieur (ingestion de pollen par les nourrices ou de miel contaminé). Ces résultats sont « en accord avec les observations de terrain de nombreux apiculteurs » [41].

En conséquence et suite à un avis de la commission d'étude de la toxicité, les usages du Gaucho ® en traitement des semences de maïs et tournesol sont interdits depuis 2004. Il est toujours utilisé sur les semences de betterave et céréales à paille. Le Confidor ®

(imidaclopride en pulvérisation) est toujours utilisé en arboriculture (abricotier, pêcher et prunier) [78]. En avril 2006, la requête en annulation de cette décision de la part de Bayer et des syndicats de producteurs de maïs est rejetée par le Conseil d'Etat [22].

3.4.3. La mise en cause du fipronil

Le fipronil est utilisé en traitement des semences tournesol et maïs (Régent TS ®) depuis 1996, il est commercialisé aussi en tant que traitement du sol (Schuss ®) [78]. Selon les apiculteurs, cet insecticide neurotoxique serait, au même titre que l'imidaclopride, impliqué dans les troubles des abeilles. En effet, malgré l'interdiction du Gaucho ® depuis 1999 les problèmes persistent, l'utilisation croissante du Régent TS ® pourrait être une explication [133].

Face à cette controverse, les experts du CST se penchent alors sur le cas du fipronil. En utilisant la même approche PEC/PNEC, le CST conclut une nouvelle fois à des rapports de risque préoccupants. En ce basant sur ce rapport, force est de constater que l'utilisation de fipronil pour la protection des cultures peut conduire à un risque pour les abeilles, risque particulièrement élevé pour les scenarii d'ingestion de pollen par les nourrices, de consommation de nectar par les butineuses et de miel par les abeilles d'intérieur [58].

De plus dans certains cas particuliers le fipronil s'est avéré être responsable d'intoxications aiguës. Il a été prouvé que lors du semis de graines de tournesol traitées Régent TS ® le rejet de poussières chargées en fipronil pouvait conduire à une exposition des abeilles situées à proximité, causant des mortalités ainsi que des symptômes neurologiques marqués (diminution du butinage et comportement anormal) [20, 58]. Une exposition dangereuse directe ou indirecte des abeilles est possible aussi lors d'un traitement de sols avec la formulation Schuss ® [19]. Ces exemples bien que ponctuels traduisent tout de même la forte toxicité du produit pour les abeilles ainsi que le risque soulevé par de telles applications. Il existe un risque de pollution de l'air lors des opérations de semis de semences traitées fipronil. Une étude a démontré que ce type de pollution aérienne était rencontré aussi lors du semis de grains de maïs traités Gaucho ® [55].

En février 2004 il a été procédé au retrait de l'autorisation provisoire de vente du Régent TS ® ainsi qu'à l'interdiction d'utilisation des autres préparations à base de fipronil. Depuis

2005 et la publication d'un arrêté ministériel au Journal Officiel, l'utilisation de produits phytosanitaires à base de fipronil en traitement du sol ou de semences est interdite. Cet arrêté fait suite à la proposition de non-inscription du fipronil à l'annexe I de la directive 91/414 faite par la France, pays rapporteur du dossier d'homologation, « compte tenu des préoccupations majeures pour l'environnement et les espèces sauvages (organismes aquatiques, abeilles, oiseaux et mammifères sauvages) » [79].

3.4.4. Les insecticides sont-ils les seuls responsables ?

Sur la base de ses propres données, Bayer a toujours défendu l'innocuité du Gaucho ® [103]. Selon les firmes phytosanitaires, il faut chercher ailleurs les causes d'affaiblissement et se pencher sur les maladies de l'abeille, les pratiques apicoles ou les aléas climatiques [62, 74]. En effet il serait facile de penser que les insecticides sont les seuls responsables partout de tous les troubles apicoles observés depuis une dizaine d'années, il convient donc d'analyser les autres causes pouvant être impliquées dans ces phénomènes d'affaiblissement.

3.4.4.1. Maladies de l'abeille

Le premier facteur à prendre en compte sont les maladies de l'abeille. Sans rentrer dans les détails de l'étiologie ou de la clinique des principales affections, certaines d'entre elles sont très fréquentes ; les symptômes sont variables et le diagnostic n'est pas toujours aisé.

La varroase est due à un acarien parasite de l'abeille (*Varroa destructor*). C'est une maladie grave et très courante touchant le couvain et les adultes de la colonie, un véritable fléau en apiculture depuis son introduction en Europe dans les années 1980. En plus de son rôle pathogène direct qui affaiblit les colonies (parfois jusqu'à leur disparition) il est également le vecteur d'autres maladies comme le virus de la paralysie aiguë (APV). La colonie touchée par la varroase est fragilisée et peut développer d'autres maladies virales (paralysie chronique, virus des ailes déformées) ou bactériennes (loque européenne) [46]. Certaines maladies comme la paralysie aiguë ou la maladie noire (autre nom de la paralysie chronique) touchent le système nerveux et peuvent provoquer des tremblements des ailes, des troubles du comportement ou des difficultés de vol, et quelquefois des fortes mortalités [62].

Plusieurs enquêtes montrent que la varroase ou la loque américaine sont souvent présentes ainsi que la nosémose ou la maladie noire. De plus, elle semblent être en augmentation lorsque des problèmes de dépopulation ou de dépérissement de colonies sont signalés [3]. Une enquête portant sur les mortalités au cours de l'hiver 1999-2000 montre ainsi la présence de *Varroa jacobsoni* dans 40% des ruchers ayant subi des pertes. Les prévalences des mycoses (36%), de la loque européenne (33%), de la loque américaine (30%), de la nosémose (30%), et de la maladie noire (19%) au sein de ces ruchers sont importantes. Au total 76% des ruchers étudiés étaient touchés par une ou plusieurs maladies [45]. La maladie noire semble être en extension, l'impact réel de la nosémose est discuté [46]. Il faut cependant se méfier de ces résultats car la détection d'une maladie dans un rucher n'implique pas forcément avec certitude l'implication seule de la maladie dans les troubles observés.

3.4.4.2. Autres facteurs

D'autres facteurs ont un impact sur la santé de l'abeille, même si leur influence réelle est difficile à quantifier. Il s'agit des conditions climatiques, de la perte de la biodiversité, de la pollution et de certaines pratiques apicoles.

L'abeille et les végétaux qu'elle visite sont sous l'influence des conditions climatiques. Durant l'hiver l'activité de la ruche est quasi-nulle, la grappe d'abeille est rassemblée pour lutter contre le froid. Un hiver trop long ou trop rude peut mettre en danger la survie de la colonie, de même en cas de reprise d'activité à la faveur d'un réchauffement trop précoce suivi d'un retour du froid. La pluie et le vent nuisent également à l'activité de butinage ; l'humidité favorise le développement de certaines maladies [62]. On sait également que l'offre de nectar et pollen varie considérablement selon les conditions climatiques avec des effets potentiels non négligeables sur les insectes pollinisateurs [46, 97]. Par exemple, la canicule de l'été 2003 a eu des effets sur la production de miel [51].

La perte de biodiversité, l'accroissement des monocultures, l'urbanisation croissante, l'usage massif d'herbicides qui limitent la diversité florale et l'arrachage des haies sont des facteurs qui appauvrissent l'environnement de l'abeille et affaiblissent les colonies. De plus, les variétés végétales cultivées ne sont pas sélectionnées sur la production de nectar ou la qualité du pollen et ces facteurs jouent un rôle sur la force et la santé des colonies [3]. Les effets de la pollution sont globalement méconnus [62].

Certaines pratiques apicoles peuvent jouer un rôle dans les phénomènes d'affaiblissement : importations de reines « exotiques » moins adaptées au biotope local ou prophylaxie insuffisante dans certains ruchers, avec utilisation de traitements anti-varroa inefficaces ou inadaptés [46].

3.4.4.3. Les interactions

Les interactions nombreuses entre les différents facteurs impliqués sont très difficiles à évaluer et rendent le problème très complexe. Tous ces facteurs peuvent causer des dépopulations sévères en saison et porter préjudice à la survie hivernale de la colonie si celle-ci n'a pas le temps de se reconstruire et d'accumuler des réserves.

Premièrement, les pesticides à des doses plus ou moins fortes fragilisent les colonies qui se défendent moins bien contre les maladies ; à moins que ce ne soit les maladies qui entraînent une sensibilité accrue à certains insecticides… Ensuite nous savons que les colonies sont exposées de façon chronique à beaucoup de pesticides, les effets de ce « cocktail » chimique sont méconnus. La synergie entre certaines maladies peut avoir des conséquences graves pour la survie des colonies [46]. Autres exemples : des déséquilibres alimentaires (liés à la qualité du pollen notamment) favorisent la sensibilité aux pesticides [135], la combinaison de conditions climatiques défavorables et de certaines maladies peut affaiblir les populations [46].

3.4.5. Evolution des troubles, la situation actuelle

Malgré la suspension d'utilisation du Gaucho ® sur tournesol prononcée en 1999 les troubles persistent au début des années 2000 et les miellées de tournesol sont toujours aussi peu productives. Les apiculteurs n'innocentent pas pour autant les insecticides et expliquent cela par la forte persistance dans le sol de la substance après traitement, par l'utilisation du Gaucho ® sur les champs de maïs voisins (où les abeilles vont récolter du pollen) ou par l'utilisation d'autres molécules en remplacement du Gaucho ®, le fipronil (Régent ®) notamment [17, 133].

Les accidents sur tournesol n'ont pas disparu puisqu'une nouvelle fois en juillet 2004 dans le Cher, sept apiculteurs propriétaires de 3000 ruches engagées sur la miellée de

tournesol constatent des troubles d'apparition brutale sur leurs colonies, fortement évocateurs d'une intoxication (mortalité et troubles neurologiques notamment). L'analyse de résidus d'insecticides montre dans certains échantillons d'abeilles mortes la présence de fipronil (et un de ses métabolites), d'imidaclopride et de lambda-cyhalothrine. Les quantités retrouvées bien qu'inférieures à la DL50 incriminent très probablement une nouvelle fois les insecticides systémiques, surtout en considérant les données de toxicités chronique et sublétale [4]. Il est à noter qu'en 2004 les usages du Gaucho ® pour les semences de maïs et du fipronil viennent seulement d'être interdits, de plus l'écoulement des stocks de semences traitées avait été autorisé par le Ministre en 2004.

2005 est la première année où les traitements à base de fipronil et d'imidaclopride (en partie) sont interdits. C'est donc une année test pour l'apiculture. Selon les données de l'UNAF (syndicat apicole) les troubles observés jusqu'alors semblent en régression, surtout dans le sud-ouest de la France. L'amélioration est cependant inégale puisque en Poitou-Charentes et Pays de Loire l'usage d'insecticides sur céréales à paille et la sécheresse auraient causé des mortalités et des pertes de production importantes. Ces résultats somme toute encourageants devront être confirmés au cours de la campagne 2006 [130]. Les apiculteurs sont cependant inquiets quant à l'homologation future de nouveaux insecticides néonicotinoïdes (clothianidine et thiamétoxam) sur maïs notamment.

3.4.6. Conclusion et perspectives

Malgré le nombre d'études et de rapports menés sur le sujet, la seule certitude actuelle est que le dossier est complexe et qu'il est difficile de parvenir à une vision claire de la situation. Certains points sont cependant maintenant admis. En premier lieu, l'imidaclopride et le fipronil en traitement de semences représentent un risque pour l'abeille qui n'avait pas été envisagé lors de leur mise sur le marché ; ils ont été à l'origine d'un certain nombre de cas avérés d'intoxications. Ensuite il est certain que les maladies de l'abeille jouent un rôle dans les phénomènes d'affaiblissement actuels ; c'est une piste à ne pas négliger et une bonne prise en charge thérapeutique (préventive et curative) de ces problèmes apporterait des solutions importantes.

A posteriori on ne peut que regretter le manque de coordination entre les différentes études, l'hétérogénéité des protocoles expérimentaux menés indépendamment les uns des

autres. Les résultats ainsi obtenus ne pouvaient être concordants… Les indéniables problèmes de communication et de compréhension entre les différents acteurs du dossier que sont services publics, les firmes agropharmaceutiques et les apiculteurs ne permettent pas une analyse sereine des problèmes. La polémique soulevée par les médias vient aussi de là. Cela doit s'améliorer mais l'importance des enjeux financiers ne facilite pas les choses…

L'analyse des données des différentes études souligne leur grande variabilité. Par exemple, l'hétérogénéité des DL50 de l'imidaclopride et de ses métabolites souligne la relative insuffisance des lignes directrices actuelles, en particulier concernant les études statistiques. Ces lignes directrices ont donc le mérite d'exister mais elles ne sont pas assez précises. Par contre, aucune directive protocolaire n'a encore été développée pour les essais de toxicité chronique ou sublétale ; il n'est pourtant raisonnablement pas possible de comparer des études ayant utilisé des protocoles différents quant à l'âge, la race des abeilles, les modalités du traitement, les périodes et la durée d'observation des effets ou même les méthodes de calcul et d'analyse des données. Par exemple de nombreuses études ont été invalidées par le CST à cause de leurs insuffisances méthodologiques [41, 58].

Le cas de l'imidaclopride et du fipronil démontre donc l'urgence d'adapter les procédures d'homologation à ce nouveau type d'insecticide. Les nouveaux insecticides développés ne peuvent être évalués de la même façon qu'il y a vingt ans. L'évaluation scientifique du risque abeille des pesticides doit s'accorder avec les exigences de l'évaluation administrative en proposant des méthodes nouvelles, simples et adaptées aux nouvelles substances actives. Tous les experts (et les apiculteurs) s'accordent à dire que les procédures actuelles sont insuffisantes et inadaptées et qu'il est nécessaire d'élaborer des protocoles harmonisés capables d'évaluer tous les aspects de leur toxicité.

Les premiers essais à développer pourraient être réalisés au laboratoire dans des conditions contrôlées (toxicité chronique, alimentation des larves, test du réflexe d'extension du proboscis notamment) et complétés par des essais dans des conditions plus naturelles [122]. Le CST insiste d'ailleurs sur les paramètres à bien contrôler lors de la mise en œuvre de ces essais.

En accord avec cette nécessaire évolution, l'approche PEC/PNEC utilisée en France par le CST constitue une nouveauté. Cette méthode a permis au CST d'évaluer avec précision le

risque pour les abeilles de l'imidaclopride et du fipronil en traitement des semences en tenant compte de la biologie de l'abeille et des modes d'expositions particuliers. Cependant beaucoup de données manquent encore sur la toxicité de ces insecticides et leur comportement dans la ruche : absence de données de toxicité larvaire, absence de dosages des produits dans le miel ou le pain d'abeille notamment, manque de données sur certains métabolites [59].

L'évolution des procédures d'évaluation du risque devrait s'étendre également aux autres espèces pollinisatrices, car si l'évaluation abeille est supposée les couvrir, les différences biologiques interspécifiques sont cependant notables. Par exemple les bourdons ont une activité de butinage différente de l'abeille domestique et ceci a des conséquences sur leur exposition aux pesticides [124]. L'évaluation ainsi que les mesures de gestion du risque devraient prendre en compte ces paramètres. Il ne faut pas oublier que bourdons et abeilles sauvages ont un rôle majeur dans la pollinisation et la biodiversité.

Plus généralement la polémique autour des insecticides systémiques de dernière génération (fipronil et imidaclopride), dont innocuité n'a toujours pas été démontrée, ne doit pas occulter les effets non intentionnels des autres pesticides sur l'abeille et l'écosystème. Ce dossier a le mérite de mettre l'accent sur la prise en compte nécessaire des effets néfastes envers l'homme et l'environnement de tous les produits phytosanitaires.

CONCLUSION

Deux aspects essentiels conditionnent la toxicologie des insecticides vis-à-vis de l'abeille : d'abord et surtout la biologie complexe de l'insecte mais aussi la diversité et la constante évolution des insecticides auxquels il est exposé. L'originalité et la complexité de l'approche tiennent à sa position ambiguë, à la frontière entre l'individu et la colonie toute entière.

En dehors des enjeux énormes des dossiers imidaclopride et fipronil, les incertitudes et interrogations qui y sont soulevées ont démontré toutes les difficultés de l'évaluation du risque abeilles ; il est d'ailleurs intéressant d'analyser en quoi et de quelle façon ces deux cas sont en train de bouleverser les méthodes. La simple approche classique utilisée depuis de nombreuses années est reconnue inadaptée aux nouveaux types d'insecticides et l'approche PEC/PNEC développée en France constitue en ce sens un remarquable progrès. Les scientifiques doivent aussi maintenant développer, perfectionner et standardiser de nouveaux essais afin d'apprécier au plus juste la toxicité des produits avant leur mise sur le marché. Cela nécessite évidemment la coopération des firmes phytosanitaires.

L'amélioration de la situation actuelle passe aussi par une restructuration de la filière apicole française, une nécessité pour mieux se défendre et faire face à la pression des firmes agropharmaceutiques. Le vétérinaire, par ses compétences épidémio-cliniques notamment, peut être un acteur important de la réorganisation sanitaire de la filière ; l'apiculture est une production animale à part entière et il est d'ailleurs étonnant de constater que la profession vétérinaire soit si peu impliquée dans les problèmes de l'abeille.

Enfin, l'abeille est dotée d'un fort sentiment de sympathie auprès du public : c'est un être attachant et utile, élaborant des denrées naturelles et précieuses. Elle est aussi un symbole de la biodiversité : l'abeille fragilisée représente la biodiversité grandement mise à mal dans notre monde moderne. C'est pour cette raison que la protection de cet insecte nous concerne tous, apiculteurs, scientifiques, firmes phytosanitaires, ou simple consommateur. A. Einstein n'aurait-il pas dit ceci : « Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années à vivre, plus de pollinisation, plus d'herbe, plus d'animaux, plus d'hommes. » ?

ECOLE
NATIONALE
VETERINAIRE
TOULOUSE

Direction de l'Enseignement et de la Vie Universitaire

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

M. BOURG Sylvain, Pierre

a été admis(e) sur concours en : 2000

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 15/09/05

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, M. KOLF-CLAUW, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

autorise la soutenance de la thèse de :

M. BOURG Sylvain, Pierre

intitulée :

« Abeille et insecticides phytosanitaires.»

Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Martine KOLF-CLAUW

Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON

Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Christian VIRENQUE

Vu le : 16 DEC. 2005
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU

23, chemin des capelles - 31076 Toulouse Cedex 3 - France - E-mail : direction@envt.fr

BIBLIOGRAPHIE

1. ACTA (Association de coordination technique agricole). Ouvrage collectif.
Index phytosanitaire ACTA. 41ème édition. Paris : ACTA, 2005. 821 p.

2. ATKINS, E.L., KELLUM, D., ATKINS, K.W.
Reducing pesticide hazards to honey bees : mortality prediction techniques and integrated management strategies.
University of California, Leaflet, 1981, **2883**. 23p.

3. AUBERT, M.
L'état sanitaire du cheptel apicole français.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 8-12.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf
Page consultée le 16/04/2005.

4. BARBANÇON, J.-M.
Département du Cher, juillet 2004. 3000 ruches victimes de toxiques !
Abeilles et fleurs, 2005, **667**, 12-16.

5. BARBANÇON, J.-M.
Communication personnelle.

6. BLOOMQUIST, J.R.
Insecticides : chemistries and characteristics.
In: E. B. Radcliffe and W. D. Hutchison [eds.], Radcliffe's IPM World Textbook, [en ligne] Adresse URL: http://ipmworld.umn.edu, University of Minnesota, St. Paul, MN, 1996. Page consultée le 10/10/2005.

7. BONMATIN, J.-M., MOINEAU, I., LECOUBLET, S. *et al.*
Neurotoxiques systémiques : biodisponibilité, toxicité, et risque pour les insectes pollinisateurs. « Le cas de l'imidaclopride ».
In : COUDERCHET, M., EULAFFROY, P., VERNET, G. (Eds.)
Produits phytosanitaires : analyse, résidus, métabolites, écotoxicologie, modes d'action, transfert. Presses Universitaires de Reims, 2001. 175-181.

8. BORNECK, R., MERLE, B.
Essai d'une évaluation de l'incidence économique de l'abeille pollinisatrice dans l'agriculture européenne.
Apiacta, 1989, **24**, 33-38.

9. BORTOLOTTI, L., MONTANARI, R., MARCELINO, J. *et al.*
Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 63-67.

10. BRASSE, D.
Overview about the poisoning incidents in honeybee populations and their clarification in Germany from 1996 to 1998.
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98, 141-147.

11. BRUNEAU, E.
Les produits de la ruche.
In : Le traité Rustica de l'apiculture. Paris : Rustica Editions, 2002. 352-387.

12. BUCKINGHAM, S.D., LAPIED, B., LE CORRONC, H. *et al.*
Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors.
J. Exp. Biol., 1997, **200**, 2685-2692.

13. CALLEC, J.-J., HUE, B., CALLEC, M.
Le neurone, cible potentielle pour les insecticides.
In : Insectes, insecticides, santé. Colloque national mode d'action et utilisation des insecticides.
Angers, 19-22 novembre 1985. Paris : ACTA, 1986. 93-108.

14. CARRECK, N.L., WILLIAMS, I.H.
The economic value of bees in the UK
Bee World, 1998, **79**, 3, 115-123.

15. CELLI, G., MACCAGNANI, B.
Honey bees as bioindicators of environmental pollution.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 137-139.

16. CHAPA, J.
Pollinisation du châtaignier.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 187-194.

17. CHARVET, R., KATOUZIAN-SAFADI, M., COLIN, M.-E., MARCHAND, P.-A., BONMATIN, J.-M.
Insecticides systémiques de nouveaux risques pour les insectes pollinisateurs.
Ann. Pharm. Fr., 2004, **62**, 29-35.

18. CLEMENT, H., BARBANÇON, J.-M., BONNAFFE, P.
Apiculture et environnement agricole.
In : Le traité Rustica de l'apiculture. Paris : Rustica Editions, 2002. 156-169.

19. COMMISSION D'ETUDE DE LA TOXICITE DES PRODUITS ANTIPARASITAIRES A USAGE AGRICOLE.
Réponse à la saisine de la commission d'étude de la toxicité relative à des mortalités importantes d'abeilles suite aux semis de tournesol dans la région Midi-Pyrénées.
Séance du 21/05/2003.
[en ligne] Adresse URL :
http://agriculture.maapar1.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/comtox_fipronil.pdf

Page consultée le 16/05/2006.

20. COMMISSION D'ETUDE DE LA TOXICITE DES PRODUITS ANTIPARASITAIRES A USAGE AGRICOLE.
Fipronil : Point sur les poussières de semoir dans le cadre du suivi post-homologation.
Séance du 21/01/2004.
[en ligne] Adresse URL:
http://agriculture.maapar1.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/avisctweb200401.pdf
Page consultée le 16/05/2006.

21. COMMISION EUROPEENNE.
Directive 96/12/CE du 8 mars 1996 modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.
Journal officiel n° L 065 du 15/03/1996. 20-37.

22. CONSEIL D'ETAT.
Communiqué de presse du 28 avril 2006.
[en ligne] Adresse URL : http://www.conseil-etat.fr/ce/actual/index_ac_lc0608.shtml
Page consultée le 25/05/2006.

23. CONSEIL EUROPEEN.
Directive 91/414/CEE du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.
Journal officiel n° L 230 du 19/08/1991. 1-32.

24. CONSEIL EUROPEEN.
Directive 97/57/CE du 22 septembre 1997 établissant l'annexe VI de la directive 91/414/CEE concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.
Journal officiel n° L 265 du 27/09/1997. 87-109.

25. CORBET, S.A., WILIAMS, I.H., OSBORNE, J.L.
Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community.
Bee World, 1991, **72**, 47-59.

26. CROSSA-RAYNAUD, P.
Quelques productions fruitières dépendant d'une pollinisation anémogame : noyer, noisetier, olivier, palmier-dattier, pistachier.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 163-180.

27. CURE, G.
Le Gaucho et les abeilles : un point sur la situation.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 31-34.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf

28. DADE, H.A.
Anatomy and dissection of the Honeybee.
London : International Bee Research Association, 1994. 158 p.

29. DARCHEN, R.
Les glandes cirières et la cire.
In : CHAUVIN, R.
Traité de biologie de l'abeille. Tome I. Paris : Masson, 1968, 450-473.

30. DAVIS, A.R.
The study of insecticide poisoning of honeybee brood.
Bee World, 1989, **70**, 163–174.

31. DAVIS, B.N.K., WILLIAMS, C.T.
Buffer zone widths for honeybees from ground and aerial spraying of insecticides.
Environmental pollution, 1990, **63**, 247-259.

32. DECOURTYE, A., LE METAYER, M., POTTIAU, H. *et al.*
Impairment of olfactory learning performances in the honey bee after long term ingestion of imidacloprid.
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98, 113-117.

33. DECOURTYE, A., PHAM-DELEGUE, M.H.
The proboscis extension reflex. Assessing the sublethal effects of pesticides on the honeybee.
In : DEVILLERS, J., PHAM-DELEGUE, M.H.
Honeybee: Estimating the environmental impact of chemicals. London: Taylor & Francis, 2002. 67-84.

34. DECOURTYE, A., ARMENGAUD, C., RENOU, M. *et al.* (a)
Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.)
Pesticide Biochemistry and Physiology, 2004, **78**, 83–92.

35. DECOURTYE, A., DEVILLERS, J., CLUZEAU, S. *et al.* (b)
Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions.
Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, **57**, 410-419.

36. DECOURTYE, A., DEVILLERS, J., GENECQUE, E. *et al.*
Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2005, **48**, 242-250.

37. DELORME, R.
Les insecticides systémiques en protection des plantes.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 64-68.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf

38. DESCOINS, C.
Les procédures d'homologation des produits phytopharmaceutiques.
In : COUDERCHET, M., EULAFFROY, P., VERNET, G. (Eds.)
Produits phytosanitaires : analyse, résidus, métabolites, écotoxicologie, modes d'action, transfert. Presses Universitaires de Reims, 2001. 421-428.

39. DOAZAN, J .-P.
Pollinisation de la vigne.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 181-186.

40. DOMEREGO, R.
Santé, bien-être, apithérapie.
In : Le traité Rustica de l'apiculture. Paris : Rustica Editions, 2002. 388-417.

41. DOUCET-PERSONENI, C., HALM, M.-P., TOUFFET, F., RORTAIS, A., ARNOLD, G.
Comité Scientifique et Technique de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles.
Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles. Rapport final.
Rapport remis au Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires Rurales, 2003, Paris. 221 p.
[en ligne] Adresse URL : http://www.agriculture.gouv.fr/spip/IMG/pdf/rapportfin.pdf
Page consultée le 22 novembre 2005.

42. EL HASSANI, A.K., DACHER, M., GAUTHIER, M., ARMENGAUD, C.
Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*).
Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2005, **82**, 30-39.

43. FAEGRI, K., VAN DER PIJL, L.
The principles of pollination ecology.
Pergamon Press, 1966. 248 p.

44. FAGOT, M., LARRAT J.-P.
Application des produits phytosanitaires sur les cultures.
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 501-561.

45. FAUCON, J.-P., MATHIEU, L., RIBIERE, M. *et al.*
Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000.
Bee World, 2002, **83**, 1, 14-23.

46. FAUCON, J.-P., RIBIERE, M.
Les causes d'affaiblissement des colonies d'abeilles.
Bulletin des GTV, 2003, **20**, 301-304.

47. FIEDLER, L.
Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybees.
J. Apic. Res., 1987, **26**, 2, 115-122.

48. FLECHE, C.
Les intoxications chez l'abeille.
La Santé de l'abeille, **195**, 147, 100-118.

49. FLETCHER, M, BARNETT, L.
Bee pesticide poisoning incidents in the United Kingdom.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 141-145.

50. FOURNIER, J., AUBERLET-DELLE VEDOVE, A., MORIN, C.
Formulation des produits phytosanitaires
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 473-495.

51. GEM-ONIFLHOR.
Audit de la filière miel 2005.
[en ligne] Adresse URL : http://pro.wanadoo.fr/apiservices/audit_filiere_apicole_n1_2004.pdf
Page consultée le 16/05/2006.

52. GORENFLOT, R.
Biologie végétale. Plantes supérieures : appareil reproducteur. 4e édition. Collection Enseignement des sciences de la vie. Masson, 1997. 278 p.

53. GOUGH, H.J., McINDOE, E.C., LEWIS, G.B.
The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honey bees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992.
J. Apic. Res., 1994, **33**, 2, 119-125.

54. GOULD, J.L., GOULD, C.G.
The honey bee.
New York: Scientific American Library, 1988. 239 p.

55. GREATTI, M., SABATINI, A.G., BARBATTINI, R., ROSSI, S., STRAVISI, A.
Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing. Preliminary results.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 69-72.

56. GUEZ, D., ZHANG, S.-H., SRINIVASAN M.V.
Methyl parathion modifies foraging behaviour in honeybees (*Apis mellifera*).
Ecotoxicology, 2005, **14**, 431-437.

57. GUPTA, P.R., CHANDEL, R.S.
Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana indica* F and *Apis mellifera* L.
Apidologie, 1995, **26**, 3-10.

58. HALM, M.-P. Comité Scientifique et Technique de l'étude multifactorielle des troubles des abeilles.
Fipronil utilisé en enrobage de semences (Régent TS ®) et troubles des abeilles.
Rapport 2005. Non publié.

59. HALM, M.-P., RORTAIS, A., ARNOLD, G., TASEI, J.-N., RAULT, S.
New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho).
Environ. Sci. Technol., 2006, **40**, 2448-2454.

60. IKEDA, T., ZHAO, X., KONO, Y. *et al.*
Fipronil modulation of glutamate-induced chloride currents in cockroach thoracic ganglion neurons.
Neurotoxicology, 2003, **24**, 807–815.

61. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique).
Agritox.
[en ligne] Adresse URL : http://www.inra.fr/agritox/
Page consultée le 20/05/2006.

62. JACOBS, F., PFLÜGER, W., SCHMIDT, H.-W., SCHMUCK, R., VAN LAERE, O.
A propos de la santé des abeilles… Paris : PR Editions, 1999. 110 p.

63. JOHANSEN, C.A.
Pesticides and pollinators.
Ann. Rev. Entomol., 1977, **22**, 177-192.

64. JOHANSEN, C.A.
Honeybee poisoning by chemicals : signs, contributing factors, current problems and prevention.
Bee World, 1979, **60**, 109-127.

65. JOHANSEN, C.A., MAYER, DF., EVES, J.D., KIOUS, C.W.
Pesticides and bees.
Environ. Entomol., 1983, **12**, 1513-1518.

66. JOHNSON, B.R.
Organization of work in the honeybee : a compromise between division of labour and behavioural flexibility.
Proc. R. Soc. Lond. B, 2003, **270**, 147-152.

67. KHAN Muhammad Rahim, KHAN Muhammad Rafique.
The role of honey bees *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) in pollination of apple.
Pakistan Journal of Biological Sciences, 2004, **7**, 3, 359-362.

68. LAMBIN, M., ARMENGAUD, C., RAYMOND, S., GAUTHIER, M.
Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee.
Arch. Insect Biochem. Physiol., 2001, **48**, 129-134.

69. LEFEBVRE, M.
Mortalités inhabituelles des ruchers en Wallonie.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 43-45.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf

70. LEYMANN, B., MÜHLEN, W., EDELMANN, A.
A semi-field test to evaluate effets of plant protection products on bood in honeybee colonies (*Apis mellifera* L.).
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98, 61-69.

71. LOUVEAUX, J.
Les abeilles et leur élevage.
Paris : Hachette, 1980. 235 p.

72. LOUVEAUX, J.
Les traitements phytosanitaires et les insectes pollinisateurs.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 565-576.

73. MATSUDA, K., BUCKINGHAM, S.D., KLEIER, D., RAUH, J.J., GRAUSO, M., SATTELLE, D.B.
Neonicotinoids : insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors.
Trends in Pharmacological Sciences, 2001, **22**, 11, 573-580.

74. MAUS, C., CURE, G., SCHMUCK, R.
Safety of imidacloprid seed dressings to honey bees : a comprehensive overview and compilation of the current state of knowledge.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 51-57.

75. MAYER, D.F., LUNDEN, J.D., KOVACS, G., MILICZKY, E.R.
Field evaluation of non-pesticides chemicals as honey bee repellents.
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98.

76. MEDRZYCKI, P., MONTANARI, R., BORTOLOTTI, L. *et al.*
Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses
on honey bee behaviour. Laboratory tests.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 59-62.

77. MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES.
Arrêté du 28 novembre 2003 relatif aux conditions d'utilisation des insecticides et acaricides à usage agricole en vue de protéger les abeilles et les autres pollinisateurs.
Journal officiel de la République Française du 30 mars 2004.

78. MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE.
e-phy. Le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France.
[en ligne] Adresse URL : http://e-phy.agriculture.gouv.fr
Page consultée le 25/05/2006.

79. MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DE LA RURALITE.
Arrêté du 19 avril 2005 interdisant l'utilisation des produits phytopharmaceutiques contenant la substance active dénommée « fipronil » en traitement du sol et des semences traitées avec ces produits.
Journal officiel de la République Française du 24 avril 2006.

80. MORIN, C.
Marché et distribution des produits phytosanitaires.
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 413-420.

81. NABHAN, G.P. *et al.*
The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields.
Conservation Biology, 1998, **12**, 1, 8-17.

82. NAUEN, R., BRETSCHNEIDER, T.
New modes of action of insecticides.
Pesticide Outlook, 2002, **13**, 6, 241-245.

83. OEPP/EPPO
Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products. Side-effects on honeybees.
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98, 279-286.

84. OEPP/EPPO.
Decision-making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products.
Chapter 10. Honey bees. 1993.
(en ligne] Adresse URL : http://www.eppo.org
Page consultée le 20/11/2005.

85. OOMEN, P.A., RUIJTER, A. de, VAN DER STEEN, J.
Method for honeybee brood feeding test with insect growth-regulating insecticides.
OEPP Bull., 1992, **22**, 613-616.

86. OOMEN, P.A.
Honey bee poisoning incidents over the last ten years, as reported by bee keepers in the Netherlands.
Proceedings of the 7th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Avignon, France, September 7-9, 1999.
In : BELZUNCES, L.P., PELISSIER, C. LEWIS, G.B. (Eds.). Hazards of pesticides to bees.
Paris : INRA, 2001, les Colloques n° 98, 129-135.

87. ÖRÖSI PÁL, Z.
Physiologie des glandes nourricières.
In : CHAUVIN, R.
Traité de biologie de l'abeille. Tome I. Paris : Masson, 1968. 263-290.

88. OSBORNE, R.H.
Insect neurotransmission: neurotransmitters and their receptors.
Pharmacol. Ther., 1996, **69**, 2, 117-142.

89. PEDIGO, L.P.
Entomology and pest management.
Fourth edition. Prentice Hall, 2002. 742 p.

90. PESSON, P.
Transport du pollen par les animaux : zoogamie.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 97-139.

91. PHAM-DELEGUE, M.-H., DECOURTYE, A., KAISER, L., DEVILLERS, J.
Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees.
Apidologie, 2002, **33**, 425-432.

92. PILLING, E.D., JEPSON, P.C.
Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera* L.).
Pestic. Sci., 1993, **39**, 4, 293-297.

93. POPE, C., KARANTH, S., LIU, J.
Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action.
Environ. Toxicol. Pharmacol., 2005, **19**, 433-446.

94. PORRINI, C., SABATINI, A.G., GIROTTI, S *et al.*
The death of honey bees and environmental pollution by pesticides : the honey bees as biological indicators.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 147-152.

95. POUVREAU, A.
Cultures de petits fruits.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 373-392.

96. POUVREAU, A.
Quelques productions potagères : tomates et autres Solanées, melon et autres Cucurbitacées.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 445-470.

97. POUVREAU, A.
Les insectes pollinisateurs. Paris : Editions Delachaux et Niestlé, 2004. 191 p.

98. RORTAIS, A., ARNOLD, G., HALM, M.-P. TOUFFET-BRIENS, F.
Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees.
Apidologie, 2005, **36**, 71-83.

99. RUTTNER, F.
Systématique du genre *Apis.*
In : CHAUVIN, R.
Traité de biologie de l'abeille. Tome I. Paris : Masson, 1968. 1-26.

100. RUTTNER, F.
Les races d'abeilles.
In : CHAUVIN, R.
Traité de biologie de l'abeille. Tome I. Paris : Masson, 1968. 27-44.

101. SCHIESTL, F.P., AYASSE, M., PAULUS, H.F. *et al.*
Orchid pollination by sexual swindle.
Nature, 1999, **399**, 421-422.

102. SCHMIDT, H.W., BRASSE, D., KÜNAST, C. *et al.*
Introduction of indices for the evaluation of tent tests and fields tests with honeybees.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 117-117.

103. SCHMUCK, R.
Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers.
Pest. Manag. Sci., 2001, **57**, 227-238.

104. SCHMUCK, R.
Effects of a chronic dietary exposure of the Honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) to imidacloprid.
Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2004, **47**, 471-478.

105. SCHRICKER, B., STEPHEN, W.P.
The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. Oral administration and the communication dance.
J. Apic. Res., 1970, **9**, 3, 141-153.

106. SCHUR, A., TORNIER, I., BRASSE, D. *et al.*
Honey bee brood ring-test in 2002 : method for the assessment of side effects of plant protection products on the honey bee brood under semi-field conditions.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 91-96.

107. SEVERIN, F., LARGUIER, M.
Chapitre IV. Les ennemis des cultures.
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 168-208.

108. SEVERIN, F.
Panorama des différents moyens de protection.
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 213-238.

109. SEVERIN, F., LARGUIER, M.
Définition des produits phytosanitaires.
In : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris : ACTA, 2002. 407-412.

110. SINGER, R.B., FLACH, A., KOEHLER, S. *et al.*
Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae : Maxillariinae).
Annals of Botany, 2004, **93**, 755-762.

111. SMART, L.E., STEVENSON, J.H.
Laboratory estimation of toxicity of pyrethroid insecticides to honeybees : relevance to the hazard in the field.
Bee World, 1982, **63**, 150-152.

112. SOUTHWICK, E.E, SOUTHWICK, L.JR.
Estimating the economic value of honey bees (Hymenoptera : Apidae) as agricultural pollinators in the United States.
J. Econ. Entomol., 1992, **85**, 3, 621-633.

113. SSM-INRA (Structure Scientifique Mixte- Institut National de la Recherche Agronomique), Versailles.
Evaluation du risque environnemental des produits phytopharmaceutiques. Révision 6-5, octobre 2004.
[en ligne] Adresse URL : http://www.versailles.inra.fr/ssm/index.htm
Page consultée le 15/10/2005.

114. STEFANIDOU, M., ATHANASELIS, S., KOUTSELINIS, A.
The toxicology of honey bee poisoning.
Vet. Human Toxicol., 2003, **45**, 2, 261-265.

115. SUCHAIL, S., GUEZ, D., BELZUNCES, LP.
Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies.
Environ. Toxicol. Chem., 2000, **19**, 7, 1901-1905.

116. SUCHAIL, S., GUEZ, D., BELZUNCES, LP.
Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera.*
Environ. Toxicol. Chem., 2001, **20**, 11, 2482-2486.

117. SUR, R., STORK, A.
Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 35-40.

118. TASEI, J.-N.
Légumineuses fourragères et protéagineuses.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 261-308.

119. TASEI, J.-N.
Cultures à graines oléagineuses des régions tempérées.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 309-330.

120. TASEI, J.-N.
Arbres fruitiers des régions tempérées.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 349-372.

121. TASEI, J.-N.
Effects of insect growth regulators on honey bees and non-*Apis* bees. A review.
Apidologie, 2001, **32**, 527-545.

122. TASEI, J.-N., PHAM-DELEGUE, M.-H., BELZUNCES, L.
Registration of systemic insecticides and European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO) guidelines.
Proceedings of the 8th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group. Hazards of pesticides to bees.
Bologna, Italy, September 4-6, 2002.
Bulletin of Insectology, 2003, **56**, 1, 189-191.

123. TAYLOR, K.S., WALLER, G.D., CROWDER, L.A.
Impairment of a classical conditioned response of the honey bee (*Apis mellifera* L.) by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides.
Apidologie, 1987, **18**, 3, 243-252.

124. THOMPSON, H.M., HUNT, L.V.
Extrapolating from Honeybees to Bumblebees in Pesticide Risk Assessment.
Ecotoxicology, 1999, **8**, 3, 147-166.

125. THOMPSON, H.M.
Behavioural effects of pesticides in bees. Their potential for use in risk assessment.
Ecotoxicology, 2003, **12**, 317-330.

126. THOMPSON, H.M.
The effects of four Insect Growth-Regulating (IGR) insecticides on honeybee (*Apis mellifera* L.) colony development, queen rearing and drone sperm production.
Ecotoxicology, 2005, **14**, 757-769.

127. THYBAUD, E.
Cas du Gaucho : historique de l'expertise.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 68-72.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf

128. TISSEUR, M.
Toxicité des produits phytosanitaires envers les abeilles.
Bull. Tech. Apic., 1996, **23**, 1, 19-22.

129. UIPP (Union des Industries de la Protection des Plantes). Site de l'Union des Industries de la Protection des Plantes. [en ligne] Adresse URL: http://www.uipp.org
Page consultée le 20/07/2005.

130. UNAF (Union Nationale de l'Apiculture Française).
Dossier de presse janvier 2006.
[en ligne] Adresse URL :
http://www.unaf-apiculture.info/dossier_presse/dossier_de_presse_1.pdf
Page consultée le 20/05/2006.

131. VALDEYRON, G.
La production de semences pour quelques plantes de grande culture : céréales, graminées fourragères, betterave à sucre.
In : PESSON, P., LOUVEAUX, J.
Pollinisation et productions végétales. Paris : INRA, 1984. 143-162.

132. VANDAME, R., MELED, M., COLIN, M.-E., BELZUNCES, L.P.
Alteration of the homing flight in the bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin.
Environ. Toxicol. Chem., 1995, **14**, 855-860.

133. VERMANDERE, P.
Affaiblissement des colonies d'abeilles sur la miellée de tournesol.
In : AFSSA (Ed.). Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Paris, 2002. 12-18.
[en ligne] Adresse URL : http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/compterenduabeille.pdf

134. VILLA, S., VIGHI, M., FINIZIO, A. *et al.*
Risk assessment for honeybees from pesticide-exposed pollen.
Ecotoxicology, 2000, **9**, 287-297.

135. WAHL, O., ULM, K.
Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*.
Oecologia, **59**, 1, 106-128.

136. WINSTON, M.L.
La biologie de l'abeille.
Paris : Editions Frison-Roche, 1993. 276 p.

Toulouse, 2006

NOM : BOURG PRENOM : SYLVAIN

TITRE : ABEILLE ET INSECTICIDES PHYTOSANITAIRES

RESUME : L'abeille est un insecte social à la biologie complexe et fascinante. C'est un pollinisateur efficace d'un très grand nombre d'espèces végétales sauvages et cultivées qui assure par ailleurs la production de miel, cire, pollen et gelée royale. Elle est ainsi d'une grande importance économique et écologique et sa protection vis-à-vis des insecticides phytosanitaires est essentielle. L'auteur traite dans la première partie la biologie et l'importance de l'abeille ; la deuxième partie est consacrée aux différents insecticides et à leur utilisation. La troisième partie envisage la toxicité des insecticides, les exigences de la réglementation concernant leur mise sur le marché et l'évaluation du risque, basée sur les essais de toxicité et les données d'exposition. Les incertitudes actuelles concernant le risque des insecticides systémiques en traitement des semences sont présentées.

MOTS-CLEFS : ABEILLE, *APIS MELLIFERA*, APICULTURE, TOXICOLOGIE, TOXICITE, INTOXICATION, INSECTICIDE, PRODUIT PHYTOSANITAIRE, PESTICIDE, RISQUE, EVALUATION DU RISQUE, IMIDACLOPRIDE.

TITLE : HONEYBEE AND INSECTICIDES.

ABSTRACT : The honeybee is a social insect with a complex and fascinating biology. It pollinates a great variety of crops and wild flowers and produces honey, wax, pollen and royal jelly. Therefore, there are both conservation and economic reasons for protecting it. The first part of this work concerns the honeybee biology and importance, the second is about plant protection insecticides and their use. Insecticides toxicity, risk assessment and registration procedures are presented in the third part. Current uncertainties about risk of systemic seed dressing treatments are discussed.

KEY WORDS : HONEYBEE, *APIS MELLIFERA*, BEEKEEPING, TOXICOLOGY, TOXICITY, POISONING, INSETICIDE, PESTICIDE, RISK, RISK ASSESSMENT, IMIDACLOPRID.