



**HAL**  
open science

## Effets des insecticides sur le développement des glandes hypopharyngiennes chez l'abeille domestique adulte après une exposition au stade larvaire

Pierrick Aupinel, Dominique Fortini, Axel A. Decourtye, James Devillers

### ► To cite this version:

Pierrick Aupinel, Dominique Fortini, Axel A. Decourtye, James Devillers. Effets des insecticides sur le développement des glandes hypopharyngiennes chez l'abeille domestique adulte après une exposition au stade larvaire. 4ème Séminaire d'Ecotoxicologie, Nov 2011, Saint-Lager, France. hal-02749146

**HAL Id: hal-02749146**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02749146v1>**

Submitted on 3 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Effets des insecticides sur le développement des glandes hypopharyngiennes chez l'abeille domestique adulte après une exposition au stade larvaire

Pierrick AUPINEL<sup>1</sup>, Dominique FORTINI<sup>1</sup>, Axel DECOURTYE<sup>2</sup>, James DEVILLERS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INRA, UE 1255, UE Entomologie, F-17700 Surgères

<sup>2</sup>ACTA, UMT PrADE, INRA - UMR 406 Abeilles et environnement, Site AgroParc, 84914 Avignon cedex 9

<sup>3</sup>CTIS, 3 Chemin de la gravière, 69140 Rillieux La Pape  
[Pierrick.Aupinel@magneraud.inra.fr](mailto:Pierrick.Aupinel@magneraud.inra.fr)

## Introduction

L'évaluation des risques sur abeille domestique liés à l'utilisation des produits phytosanitaires s'intéresse principalement aux effets létaux des matières actives sur larves et sur adultes, et non aux effets sublétaux. Cet état de fait résulte d'une part d'une large diversité de ces effets, et d'autre part d'une difficulté générale à relier ce type d'effet à une notion de risque vital pour la colonie. Cette ambiguïté est levée dès lors qu'il s'agit d'un effet qui touche directement une notion vitale, telle que l'alimentation des larves. On comprend ainsi que toute altération de cette fonction soit de nature à générer un risque réel pour la survie de la colonie. Les glandes hypopharyngiennes (GHP), associées aux glandes mandibulaires, jouent un rôle prédominant dans la sécrétion de la gelée royale et donc dans l'alimentation des larves. Cet organe, situé dans la tête, occupe une large partie du volume céphalique lorsqu'il atteint son développement maximum. Le développement des GHP dépend essentiellement de l'âge des ouvrières et de leur alimentation. Il a été montré que la taille et le fonctionnement des acini qui constituent ces glandes augmentent à partir de l'âge de 3 jours (Huang et Otis, 1989, Deseyn et Billen, 2005) et conserve un niveau d'activité maximal variable selon que les ouvrières sont maintenues en présence de couvain ou non. La teneur en protéines des pollens consommés par les ouvrières (Hrassnigg et Crailsheim, 1998, Pernal et Currie, 2000) constitue également un facteur déterminant pour le développement des GHP. Parmi les facteurs susceptibles d'affecter le développement des GHP, les inhibiteurs de protéase et notamment le SBTI (Inhibiteur de trypsine extrait du soja) connu pour ses effets insecticides a fait l'objet d'un certain nombre d'études sur l'abeille (Sagili et al, 2005, Sagili et Pankiw, 2007). Ces travaux révèlent des effets sur le développement des GHP à des doses faibles (1 % du pollen ingéré) et vraisemblables en terme de risque d'exposition en conditions agronomiques. Il a également été montré qu'une intoxication sublétale au diflubenzuron (50 µg par abeille et par jour durant 6 jours) perturbe significativement le développement des GHP (Gupta et Chandel, 1994). Si les effets d'une exposition à des substances toxiques ont pu être observés, aucune relation n'a jusqu'alors pu être établie entre une exposition durant le stade larvaire, et en effet différé sur le développement des GHP chez l'adulte. Ces scénarii sont en effet plus pernicieux en conditions naturelles à deux titres :

- d'une part les relations de cause à effet sont beaucoup plus difficiles à établir compte tenu des délais qui séparent l'exposition de l'effet,
- d'autre part, une intoxication larvaire ne peut s'envisager que massivement et donc induire un déclin significatif des colonies.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer, en conditions contrôlées, les effets potentiels d'une exposition sublétale de larves d'ouvrières à deux insecticides sur le développement des GHP des adultes.

## Matériels et méthodes

La deltaméthrine est un insecticide neurotoxique de la famille des pyréthriinoïdes utilisé sur céréales, vigne, pomme de terre, cultures arboricoles et légumières. Le pyriproxifène est un larvicide analogue de l'hormone juvénile qui agit en perturbant la mue imaginale. Il est principalement utilisé en cultures légumières et fruitières notamment contre les aleurodes. Les doses d'expositions testées ont été choisies à l'issue d'essais préalables qui nous ont permis de déterminer le seuil inférieur de létalité larvaire. Les larves sont exposées oralement par incorporation des molécules pures dans l'alimentation.

La méthode d'élevage *in vitro* utilisée est celle décrite par Aupinel *et al.* (2005). Les reines de plusieurs colonies sont isolées, et placées dans une cage (44,5 × 31,5 × 5 cm) dont les parois sont constituées de grilles à reine, contenant un cadre bâti vierge. Ce dispositif vise à contraindre la reine à pondre sur ce cadre, les grilles à reine l'empêchant de passer d'un cadre à un autre. Après 30 heures au maximum, la reine est libérée, et le cadre garni de pontes récentes est de nouveau placé dans la cage pour l'isoler de la reine, et remis au sein de la colonie pendant 3 jours, afin que les oeufs soient immédiatement pris en charge par les ouvrières et éclosent. Le lendemain de l'éclosion des pontes (J+1), les cadres contenant les larves L1 sont transportés au laboratoire (25°C) afin que les larves soient transférées une à une dans le dispositif d'élevage *in vitro*. Ce dispositif est constitué de plaques de microtitration de 48 puits. Chacun des puits contient un coton dentaire imbibé d'une solution désinfectante. Chaque coton est surmonté d'une cupule généralement utilisée pour l'élevage des reines, ayant préalablement reçu 20 µl d'un aliment composé à 50 % de gelée royale et 50 % d'une solution sucrée. Les jeunes larves sont transférées du cadre dans les cupules à raison d'une larve par cupule. Les plaques sont ensuite placées dans une étuve ventilée à 35°C et 96 % d'humidité relative (HR) de J+1 à J+6,. Le nourrissage a lieu chaque jour à l'aide d'une micropipette (excepté à J2), et les larves reçoivent au total 160 µl d'aliment. A J+7, les plaques sont placées dans une étuve à 35°C et 80% HR de J+8 jusqu'à la fin de l'émergence. A partir de J+15, les plaques sont transférées dans des boîtes en plastique contenant un nourrisseur à sirop (50 % de sucre, 50 % d'eau) et un nourrisseur à pollen, destinées à recueillir les abeilles adultes. Elles sont ensuite élevées jusqu'à J+26 puis congelées pour analyse du développement des GHP. Il a été montré que le poids frais de la tête était corrélé positivement à la taille des GHP (Hrassnigg et Crailsheim, 1998). Une technique simple et objective pour évaluer le développement des GHP consiste à prélever la tête de l'abeille, de la broyer et doser les protéines totales par la méthode de Bradford. Les observations ont porté sur la mortalité cumulée jusqu'à J+26 (adultes âgés de 8 jours) et la quantité de protéines totale dans les têtes.

## Résultats

**Tableau 1. Mortalités cumulées jusqu'à J+26 et quantités de protéines contenues dans les têtes en fonction des doses d'exposition larvaire de deux insecticides (tests : X<sup>2</sup> pour les mortalités, ANOVA pour les dosages de protéines).**

matière active	traitement	Effectifs initiaux	mortalité %	Effectifs adultes	Protéines (moyenne ± Sd)
deltaméthrine	témoins eau	48	29,20 (ac)	34	0,46 ± 0,02 (a)
	témoins acétone	48	31,25 (abc)	33	0,40 ± 0,01 (ab)
	2 ng/larve	48	25,00 (ac)	30	0,35 ± 0,02 (bc)
	6 ng/larve	48	39,58 (abc)	29	0,32 ± 0,02 (c)
	18 ng/larve	48	45,83 (b)	26	0,31 ± 0,02 (c)
pyriproxifène	témoin eau	48	39,58 (a)	30	0,33 ± 0,01 (a)
	témoin acétone	48	60,42 (b)	19	0,34 ± 0,02 (a)
	2 ng/larve	48	56,25 (abc)	21	0,32 ± 0,01 (a)
	6 ng/larve	48	50,00 (abc)	24	0,33 ± 0,02 (a)
	18 ng/larve	48	50,00 (abc)	24	0,35 ± 0,02 (a)
	54 ng/larve	48	64,58 (bc)	17	0,25 ± 0,01 (b)

Pour chaque molécule, on n'observe pas de relation significative entre les doses testées et les mortalités, même si une tendance apparaît pour les doses les plus fortes. Les effets sur les quantités de protéines varient différemment d'une molécule à l'autre. Après une exposition à la deltaméthrine, ces valeurs diminuent graduellement de 0,40 mg à 0,31 mg de protéines lorsque les doses d'exposition augmentent de 2 ng/larve à 18 ng/larve. Le pyriproxyfène ne produit pas d'effet sur la quantité de protéines jusqu'à la dose de 18 ng/larve. A 54 ng/larve, on observe une nette réduction de la quantité de protéines dans les têtes des ouvrières.

### **Conclusion**

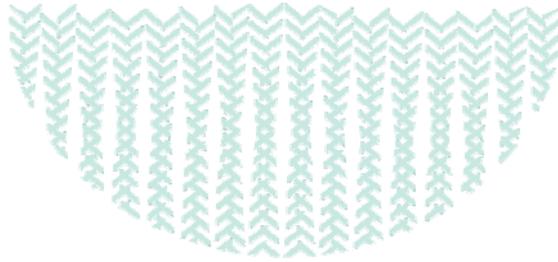
Cette étude montre que l'exposition de larves d'abeilles à des doses sublétales d'insecticides peut induire des effets sublétaux différés au stade adulte. L'inhibition du développement des GHP, bien que non létal au plan individuel, peut se révéler fatal pour la colonie dès lors que ce phénomène touche massivement et durablement les larves. Ce scénario est tout à fait vraisemblable dans la mesure où les abeilles fréquentent massivement les parcelles de grandes cultures, approvisionnant ainsi la ruche avec une source unique de pollen sur plusieurs semaines. Les doses d'expositions testées sont vraisemblables notamment pour la deltaméthrine. Cet insecticide peut être retrouvé dans le pollen de colza jusqu'à la dose de 0,605 mg par kg de pollen (Tasei et al, 1994). Par ailleurs, on sait que la quantité de pollen ingérée par une larve d'ouvrière durant son développement est estimée à 5,4 mg (Rortais et al, 2005). Dans ces conditions, la quantité de deltaméthrine ingérée par une larve nourrie exclusivement avec du pollen de colza serait environ de 3 ng, dose qui, au vu de nos résultats, peut induire des dérèglements notables sur le développement des colonies d'abeilles.

**Remerciements :** Cette étude a été en partie financée par le Ministère de l'Ecologie, du Développement durable, des Transports et du Logement (Programme PNRPE).

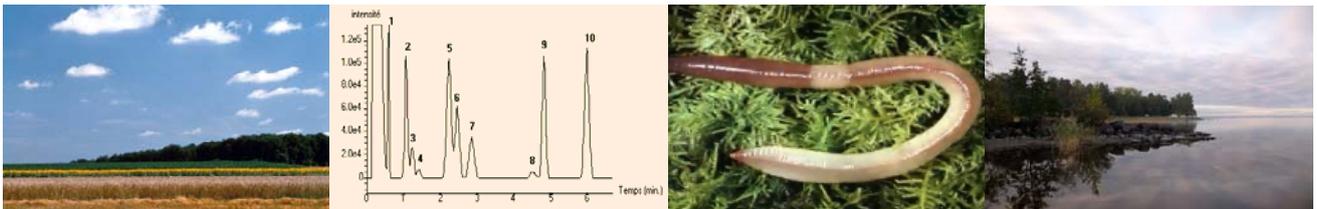
**Mots-clés :** abeille domestique, pesticide, larve, glandes hypopharyngiennes

### **Références**

- Aupinel, P., Fortini, D.; Dufour, H., Tasei, J. N., Michaud, B., Odoux, J. F., Pham-Delegue, M. H. 2005. Improvement of artificial feeding in a standard in vitro method for rearing *Apis mellifera* larvae. Bulletin of Insectology 58 (2) : 107-111
- Deseyn J., Billen J. 2005. Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera, Apidae). Apidologie 36:49-57.
- Gupta P.R., Chandel R. S. 1994. Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana* and *Apis mellifera* L. Apidologie 26:3-10.
- Huang Z. Y., Otis G. W. 1989. Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Insectes sociaux 36(4):264-276.
- Hrassnigg N., Crailsheim K. 1998. Adaptation of hypopharyngeal gland development to the brood status of honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. Journal of insect Physiology 44:929-939.
- Pernal S. F., Currie R. W. 2000. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Apidologie 31:387-409.
- Rortais A., Arnold G., Halm M. P., Touffet-Briens F. 2005. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. Apidologie 36 : 71-83
- Sagili R. R., Pankiw T., Zhu-salsman K. 2005. Effects of soybean inhibitor on hypopharyngeal gland protein content, total midgut protease activity and survival of the honey bee (*Apis mellifera* L.). Journal of insect Physiology 51:953-957.
- Sagili R. R., Pankiw T. 2007. Effects of protein-constrained brood food on honey bee (*Apis mellifera* L.) pollen foraging and colony growth. Behavioral Ecology and Sociobiology 61:1471-1478.
- Tasei J. N., Sabik H., Pirastru L., Langiu E., Blanche J. M., Fournier J., Taglioni J. P. 1994. Effects of sublethal doses of deltamethrin (Decis CE) on *Bombus terrestris*. Journal of apicultural research 33(3) : 129-135.



# 4<sup>ème</sup> Séminaire d'Ecotoxicologie de l'INRA



**Saint Lager, 7-9 novembre 2011**

***Réseau des Ecotoxicologues de l'INRA***  
***Réseau Ecodynamique des Micropolluants***

ALIMENTATION  
AGRICULTURE  
ENVIRONNEMENT

INRA