



HAL
open science

Effets des pesticides à faibles doses sur le système nerveux et la reproduction chez l'abeille

Luc Belzunces, Claude Collet, Jean-Luc Brunet

► **To cite this version:**

Luc Belzunces, Claude Collet, Jean-Luc Brunet. Effets des pesticides à faibles doses sur le système nerveux et la reproduction chez l'abeille. *Innovations Agronomiques*, 2016, 53, pp.11-15. 10.15454/1.5135851770078833E12 . hal-01603964

HAL Id: hal-01603964

<https://hal.science/hal-01603964>

Submitted on 28 May 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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Effets des pesticides à faibles doses sur le système nerveux et la reproduction chez l'abeille

Belzunces L.P.¹, Collet C.¹, Brunet J.-L.¹

¹ Unité de Recherche Abeilles & Environnement, équipe de Toxicologie Environnementale - INRA PACA, Site Agroparc, F-84914 Avignon.

Correspondance : luc.belzunces@inra.fr

Résumé

Au cours de leur activité de butinage, les abeilles sont soumises au contact de nombreux polluants dont les produits phytopharmaceutiques ou pesticides. Les pesticides peuvent induire des effets létaux ou des effets sublétaux délétères qui compromettent la survie des colonies d'abeilles. La caractérisation des effets des pesticides peut s'effectuer a priori, c'est à dire dans un cadre réglementaire avant homologation du produits phytopharmaceutique, soit a posteriori, c'est dire dans le cadre de recherches développées après homologation. Cependant, le cadre réglementaire est marqué par une carence en méthodes toxicologiques validées et reconnues pour évaluer ou prédire la toxicité des pesticides pour les abeilles. Le développement de telles méthodes nécessite de connaître au mieux la physiologie des abeilles et de savoir caractériser les effets délétères. Deux exemples sont ici traités pour illustrer le développement de méthodes d'évaluation de la toxicité en se fondant sur des travaux de recherche fondamentaux sur la neurotoxicité et la reprotoxicité des pesticides.

Mots-clés : Abeilles, Pesticides, Produits phytopharmaceutiques, Effets sublétaux, Méthodes toxicologiques, Neurotoxicité, Reprotoxicité

Abstract: Effects of low doses of pesticides on the nervous system and the reproduction of the honey bee

During their foraging activity, the honey bees are in contact with numerous pollutants including phytopharmaceutical products or pesticides. Pesticides can induce lethal or adverse sublethal effects that jeopardize the fate of the honey bee colonies. The characterization of pesticide effects can be achieved either in a regulatory frame before the registration of the phytopharmaceutical product or in the frame of an academic research conducted after registration. However, the registration procedure is marked by a lack of toxicity methods that are validated and widely recognized to assess or predict the toxicity of pesticides to bees. The development of such methods requires a better knowledge of honey bee physiology and the capability of characterizing adverse effects. Two examples are treated here for exemplifying the development of methods to assess the toxicity to bees on the basis of a fundamental research on neurotoxicity and reprotoxicity of pesticides

Keywords: Honey bee, Pesticides, Phytopharmaceutical products, Sublethal effects, Toxicity tests, Neurotoxicity, Reprotoxicity

Introduction

Au cours de leur activité de butinage, les abeilles sont exposées à une multitude de polluants dont les pesticides. Les pesticides peuvent agir seuls ou en association avec d'autres pesticides ou d'autres stressseurs, tels que les agents pathogènes, pour induire des toxicités létales ou des effets sublétaux délétères. Les effets sublétaux délétères peuvent se produire dans une échelle qui s'étend de la

molécule à la population. Cependant, quelle que soit la nature des effets induits, les impacts globaux des pesticides résultent d'altérations physiologiques, souvent discrètes, qui sont initiées par l'interaction d'un toxique avec sa ou ses cibles biologiques.

Les recherches sur les impacts des pesticides sur les abeilles incluent non seulement la caractérisation des effets délétères mais aussi la détermination des modes d'action biologiques, par lesquels ces effets sont induits, et le développement de méthodes d'études de la toxicité. Elles sont illustrées ici par des travaux au niveau neural sur la caractérisation des modes d'action des toxiques qui conduisent au développement de méthodes d'investigation de la toxicité ainsi que par des travaux sur les impacts des pesticides sur la fertilité des mâles et des reines d'abeilles

1. Un exemple d'innovation : le développement d'une méthode de criblage *in vitro* pour comprendre la toxicité des insecticides, améliorer l'évaluation des risques encourus par les abeilles et trouver des alternatives

De nombreuses études en laboratoire et sur le terrain ont prouvé la sensibilité des pollinisateurs à l'égard des insecticides, y compris à des niveaux d'exposition faibles. Afin de mieux anticiper la toxicité des produits phytosanitaires et de contribuer à l'élaboration de solutions alternatives, les chercheurs de l'unité de recherche Abeilles et Environnement du centre Inra PACA mènent depuis plusieurs années des travaux sur les canaux ioniques neuronaux des abeilles. Les résultats de leurs études ont servi de base à l'élaboration d'un test *in vitro* qui permettra d'évaluer la toxicité de molécules chimiques pour les pollinisateurs. Ce test élaboré en collaboration avec le CNRS de Montpellier et une université canadienne, a fait l'objet du dépôt de deux brevets d'invention (Collet et al., 2014 ; Collet et al., 2015).

1.1 Les canaux ioniques au cœur de l'innovation

La sensibilité de l'abeille domestique *Apis mellifera* vis-à-vis des produits phytosanitaires est une question qui mobilise fortement les scientifiques de l'Inra et d'autres structures de recherche. Au sein de l'unité de recherche Abeilles et Environnement basée à Avignon, des chercheurs spécialistes en neurophysiologie et en toxicologie ont étudié, chez l'abeille domestique, le fonctionnement des canaux ioniques qui sont les principales cibles des insecticides neurotoxiques. Les canaux ioniques contrôlent les transports d'ions au travers des membranes de plusieurs types cellulaires, particulièrement des neurones, où les canaux sodiques (cible principale des insecticides pyréthrinoïdes) sont à l'origine du signal nerveux (Collet et al., 2016 ; Kadala et al., 2014 ; Kadala et al., 2011). Plusieurs autres types de canaux ioniques, quant à eux impliqués dans la neurotransmission synaptique sont ciblés par des insecticides (les récepteurs-canaux à l'acétylcholine, au GABA, ou au glutamate). En perturbant le fonctionnement de ces canaux, les insecticides peuvent compromettre des processus physiologiques tels que l'olfaction ou la gustation, indispensables à la survie de l'insecte. D'autres canaux directement impliqués dans l'activation des muscles, déterminants pour toutes les tâches que doivent réaliser les abeilles, sont touchés par certains insecticides (Collet, 2009). Les recherches ont par exemple montré qu'à une dose faible ne causant pas la mort, un insecticide pyréthrinoïde (qui altère le fonctionnement des canaux sodiques), ou un insecticide néonicotinoïde (qui perturbe le fonctionnement des récepteurs-canaux à l'acétylcholine), pouvaient provoquer un déficit locomoteur chez de jeunes abeilles, persistant plusieurs heures après l'exposition (Charreton et al., 2015).

Dans le cadre du projet Bee-Channels (ANR-13-BSV7-0010) financé par l'Agence Nationale de la Recherche, dont l'objectif est de contribuer à l'amélioration des méthodes d'évaluation de la neurotoxicité des insecticides pour les abeilles, les chercheurs ont réussi à mettre au point un test *in vitro* qui pourrait s'avérer utile dans le contexte du plan de réduction des insecticides Ecophyto 2 lancé par le Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer. Ce travail a été réalisé en collaboration avec des chercheurs de l'équipe Pharmacologie de la transmission synaptique & neuroprotection à

l'Institut des Biomolécules Max Mousseron, (anciennement rattachés au CRBM de Montpellier) et de l'équipe Neurosciences moléculaires et cellulaires l'Université Laval à Québec. Ce programme de recherche a aussi pour objectif d'élaborer une stratégie prédictive en reliant les effets observés *in vitro* et ceux observés *in vivo*, notamment par des approches de toxicologie classique mais aussi par des méthodes permettant d'identifier des effets sublétaux délétères (Charreton et al., 2015).

1.2 Une innovation Inra au service des abeilles

A l'instar de l'approche utilisée depuis quelques années en pharmacotoxicologie humaine pour prédire *in vitro* les risques cardiotoxiques des médicaments candidats (test hERG), le nouveau test mis au point par les chercheurs peut révolutionner le domaine de la toxicologie des pollinisateurs. Les chercheurs ont réussi à induire l'expression *in vitro* des canaux sodiques neuronaux d'abeille afin de tester leur fonctionnalité après exposition aux insecticides (Collet et al., 2015 ; Gosselin-Badaroudine et al., 2015). Cette méthode a également été éprouvée sur d'autres canaux impliqués dans le transport du calcium, un ion clef dans la régulation des processus neuronaux (Cens et al., 2015 ; Cens et al., 2013 ; Collet et al., 2014 ; Gosselin-Badaroudine et al., 2016) et actuellement, l'expression d'autres types de canaux ioniques est à l'étude. Grâce à ce procédé, il est possible de quantifier l'altération des canaux en étudiant divers paramètres du signal nerveux. L'ensemble de ces effets fournit une indication prédictive sur l'effet neurotoxique *in vivo* des substances testées. Des molécules candidates pourraient être ainsi passées au crible via une méthode robotisée afin de sélectionner des insecticides efficaces contre les insectes ravageurs des cultures mais respectueux des pollinisateurs.

1.3 Proposer une évaluation du risque toxicologique plus pointue et prédictive

La réglementation européenne impose des tests toxicologiques traditionnels (mortalité) mais ne se penche à l'heure actuelle que très peu sur les effets délétères plus subtils, que l'on qualifie d'effets sublétaux. Ces effets sublétaux correspondent à des modifications plus ou moins dramatiques des fonctions physiologiques, mais ils ne causent pas la mort directe de l'abeille, qui est cependant fragilisée dans un environnement hostile (prédation, hypothermie, hypoglycémie...). Les travaux décrits ci-dessus participent de l'élaboration d'une approche toxicologique intégrée allant de la cellule à l'organisme entier et qui permettra de détecter des effets délétères difficiles à mettre en évidence chez l'insecte (Figure 1). Le test fonctionnel *in vitro* présentera également l'avantage de réduire le nombre d'expérimentations nécessaire sur les abeilles vivantes en criblant les molécules *in vitro* bien en amont des tests toxicologiques classiques, en respectant ainsi la « règle des 3 R : Réduire, Raffiner, Remplacer » encadrant les procédures d'expérimentation animale. Pour plus d'informations : <http://www.spe.inra.fr/Toutes-les-actualites/Test-in-vitro-sur-la-nocivite-des-insecticides-pour-les-abeilles>

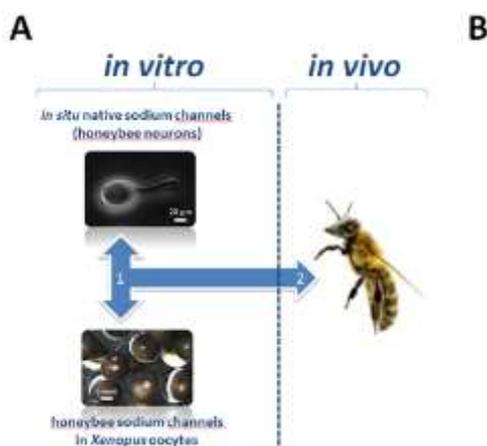


Figure 1 : Détecter des effets délétères ; approche toxicologique intégrée allant de la cellule (A) à l'organisme entier (B).

2. Déclin des abeilles : impact des pesticides sur les reproducteurs ?

La caractérisation des effets des pesticides sur la fertilité chez l'abeille domestique a été initiée en 2010 pour répondre à un questionnement issu des professionnels qui constataient, en parallèle des effondrements de colonie et des surmortalités, des problèmes de longévité et de dysfonctionnement des reines au sein des colonies. Si les ouvrières ont fait l'objet d'une attention particulière, très peu d'études se sont intéressées aux effets de ces insecticides sur les reproducteurs, individus clés de la colonie. En effet, chez l'abeille domestique, les effets et mode d'action des pesticides sont très largement étudiés chez les ouvrières mais très peu chez les reproducteurs surtout à cause de la difficulté à les élever ou les obtenir en nombre suffisant.

Pour développer cette thématique, nous avons considéré de nombreuses stratégies qui tiennent compte soit des effets directs des pesticides sur les reproducteurs mais également des effets indirects qui pourraient être induits par une qualité altérée de la reproduction. Nos études ont nécessité une mise au point des techniques d'élevage des mâles adultes en conditions semi-contrôlées et en conditions de laboratoire (Ben Abdelkader et al., 2014) que nous sommes les seuls aujourd'hui à maîtriser mais également de mieux cerner l'élevage des reines en conditions de laboratoire. C'est à partir de ces techniques d'élevage que nous avons pu envisager de développer des approches de biologie cellulaire et de biochimie pour déterminer la qualité du sperme au travers de différents paramètres cellulaires et physiologiques dans le but de pouvoir évaluer les impacts de différents stressés abiotiques et éventuellement biotiques sur la qualité des semences. Cette thématique a reçu (i) les soutiens du département SPE de l'INRA, de la Région PACA, de l'AUF (Agence universitaire de la Francophonie) ainsi qu'un financement sur fonds européens de gestion et d'aide à l'agriculture (11-42R) et (ii) d'un parrainage par la société Apiculture-Remuaux qui nous ont permis jusqu'à aujourd'hui de développer et d'asseoir cette thématique.

Les insecticides systémiques comme les néonicotinoïdes et le fipronil font l'objet d'une intense polémique pour les effets létaux et sublétaux qu'ils induisent sur les pollinisateurs dont l'abeille domestique. Pour vérifier ces hypothèses chez les reproducteurs, nous avons élevé des mâles (faux-bourçons) en conditions semi-contrôlées, de la naissance jusqu'à la maturité sexuelle. Durant cette période, les mâles ont été exposés quotidiennement au fipronil via un sirop contaminé à une faible concentration environnementale, de 0,1 µg/L (0,1 ppb) mimant les conditions naturelles où les mâles sont nourris par une alimentation récoltée par les butineuses. Les résultats montrent que le fipronil altère la fertilité en affectant la concentration, le taux de survie et le métabolisme des spermatozoïdes dans les semences des mâles sexuellement matures (Kairo et al., 2016).

Nous nous sommes intéressés aux conséquences que pouvait avoir une baisse de fertilité des mâles sur le potentiel reproducteur de la reine, élément clé pour la colonie. En effet, la reine, en s'accouplant au début de sa vie avec de nombreux mâles, doit constituer un stock de spermatozoïdes à partir duquel elle devra produire l'ensemble des ouvrières et assurer, ainsi, la pérennité de sa colonie. De jeunes reines vierges ont été inséminées artificiellement et, après deux semaines d'élevage en laboratoire, la qualité de remplissage de la spermathèque a été déterminée. Ces résultats révèlent que ces jeunes reines non exposées au(x) pesticide(s) mais inséminées par des semences provenant des mâles exposés, présentent une diminution de 30% du nombre de spermatozoïdes viables stockés dans leur spermathèque pour fertiliser les œufs (Kairo et al., 2016). Une telle diminution du potentiel reproducteur de ces reines pourrait être un facteur explicatif de la défaillance des reines observée dans les exploitations apicoles qui se traduit généralement par des pertes ou des renouvellements prématurés des reines et/ou par des effets sur la production des ouvrières, perturbant le bon développement des colonies.

Les effets induits chez le mâle par le Fipronil en conditions (i) de laboratoire ou (ii) semi-contrôlée sont identiques et de même amplitude. Cela indique que les effets observés en conditions de laboratoire sont prédictifs des ceux observés en conditions semi-contrôlées et que les deux approches

d'exposition pourraient être prises en considération pour servir de base à des tests réglementaires de reprotoxicité chez l'abeille.

Références bibliographiques

- Ben Abdalkader F., Kairo G., Tchamitchian S., Cousin M., Senechal J., Crauser D., et al., 2014(a). Semen quality of honey bee drones reared to sexual maturity under laboratory, semi-field and fields conditions. *Apidologie*. 45:215-223.
- Cens T., Rousset M., Collet C., Charreton M., Garnery L., Le Conte Y., Chahine M., Sandoz J.C., Charnet P., 2015. Molecular characterization and functional expression of the *Apis mellifera* voltage-dependent Ca²⁺ channels. *Insect biochemistry and molecular biology* 58: 12-27
- Cens T., Rousset M., Collet C., Raymond V., Demares F., Quintavalle A., Bellis M., Le Conte Y., Chahine M., Charnet P., 2013. Characterization of the first honeybee Ca²⁺ channel subunit reveals two novel species- and splicing-specific modes of regulation of channel inactivation. *Pflugers Arch* 465: 985-996
- Charreton M., Decourtye A., Henry M., Rodet G., Sandoz J.C., Charnet P., Collet C., 2015. A Locomotor Deficit Induced by Sublethal Doses of Pyrethroid and Neonicotinoid Insecticides in the Honeybee *Apis mellifera*. *PLoS One* 10: e0144879
- Collet C., 2009. Excitation-contraction coupling in skeletal muscle fibers from adult domestic honeybee. *Pflugers Arch* 458: 601-612
- Collet C., Cens T., Rousset M., Charnet P., 2014. Bee calcium channel and uses [patent]. In INRA, CNRS (Eds.), Vol. WO2014155021.
- Collet C., Chahine M., Gosselin-Badaroudine P., Charnet P., Cens T., Rousset M., 2015. Sodium channel subunits of pollinator insects and uses of thereof [patent]. In INRA, CNRS, ULC (Eds.), Vol. EPO 14200741.8.
- Collet C., Kadala A., Vaissière B., Rousset M., Cens T., Le Conte Y., Chahine M., Thibaud J-B., Charnet P., 2016. Differential Action of Pyrethroids on Honey Bee and Bumble Bee Voltage-Gated Sodium Channels. *Biophysical Journal* 110: 112a
- Gosselin-Badaroudine P., Moreau A., Delemotte L., Cens T., Collet C., Rousset M., Charnet P., Klein M.L., Chahine M., 2015. Characterization of the honeybee AmNav1 channel and tools to assess the toxicity of insecticides. *Sci Rep* 5: 12475
- Gosselin-Badaroudine P., Moreau A., Simard L., Cens T., Rousset M., Collet C., Charnet P., Chahine M., 2016. Biophysical characterization of the honeybee DSC1 orthologue reveals a novel voltage-dependent Ca²⁺ channel subfamily: CaV4. *J Gen Physiol* 148: 133-145
- Kadala A., Charreton M., Jakob I., Cens T., Rousset M., Chahine M., Le Conte Y., Charnet P., Collet C., 2014. Pyrethroids differentially alter voltage-gated sodium channels from the honeybee central olfactory neurons. *PLoS One* 9: e112194
- Kadala A., Charreton M., Jakob I., Le Conte Y., Collet C., 2011. A use-dependent sodium current modification induced by type I pyrethroid insecticides in honeybee antennal olfactory receptor neurons. *Neurotoxicology* 32: 320-330
- Kairo G. et al., 2016. Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential. *Scientific Reports* 6: 31904; doi: 10.1038/srep31904

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL ou son DOI).