

L'abeille **bio**-indicateur

L'abeille, sentinelle de l'environnement

Pourquoi l'abeille est-elle un indicateur biologique ?

L'une des stratégies envisagées pour l'évaluation d'un impact environnemental est celle des indicateurs biologiques. On sait à présent que tout organisme, vivant dans son propre écosystème, est le résultat des conditions physiques, chimiques et biotiques du milieu dans lequel il se développe. Et seuls quelques organismes - pour des caractéristiques qui leur sont propres - peuvent être utilisés comme indicateurs de pollution. D'une manière générale, on peut dire que les seuls organismes qui peuvent être utilisés à cet effet sont ceux que l'on trouve facilement, présents à des densités élevées, sensibles au polluant objet de l'enquête et qui présentent des symptômes permettant de remonter à la cause.



Anna Gloria SABATINI
C.R.A. Istituto Nazionale Apicoltura
Bologne, Italie



A partir de là, il est aisé de comprendre l'intérêt que revêtent les indicateurs biologiques pour la communauté scientifique : ils offrent en effet une grande capacité de synthèse et fournissent des indications réelles à grande échelle à partir de quelques données très simples. Par ailleurs, il convient de souligner que les indicateurs biologiques sont peut-être les seuls instruments à même de signaler les effets conjugués induits par des groupes de polluants qui interagissent dans un même milieu.

Les indicateurs biologiques conservent en outre une sorte de mémoire du dommage subi et sont par conséquent capables de fournir une projection du passé récent et de l'avenir immédiat. Un grand nombre des caractéristiques susmentionnées se retrouvent dans un insecte qui accompagne depuis toujours la vie des hommes : l'abeille (*Apis mellifera*). Cet insecte est surtout connu pour la production du miel, l'ancienne nourriture des dieux, mais il est le promoteur de nombreuses autres substances telles que pollen, cire, gelée royale, propolis et venin.

Les abeilles sont d'excellents indicateurs biologiques parce qu'elles signalent la dégradation chimique de l'environnement dans lequel elles vivent, et ce par le biais de deux signaux : le degré de mortalité plus ou moins élevé et les différents niveaux de dommages subis par les abeilles elles-mêmes en présence de substances phytosanitaires utilisées en agriculture; les résidus qu'on peut retrouver sur le corps des abeilles ou dans les produits de la ruche, ou encore en présence d'antiparasitaires ou autres agents polluants (les métaux lourds et les radionuclides par exemple) qu'il est possible de détecter par des analyses de laboratoire.

Par ailleurs, de nombreuses caractéristiques éthologiques et morphologiques font de l'abeille un bon indicateur écologique : son corps est en grande partie recouvert de poils qui capturent les matières et autres substances qu'elle rencontre en

vol. Elle est hautement sensible à la plupart des antiparasitaires qui peuvent être présents en cas d'épandage inapproprié dans l'environnement (par exemple durant la floraison, en présence de flore spontanée, en présence de vent, etc.). Son taux élevé de reproduction et sa courte durée de vie moyenne donnent lieu à un renouvellement constant et rapide de la ruche. Il s'agit d'une espèce plus ou moins orbicole, ayant peu d'exigences, présente en colonies : les butineuses, qui constituent à peu près 10% de toute la ruche, sont infatigables dans leur activité de récolte de différentes substances (nectar, pollen, miellat et eau) dans tous les milieux (terrain, végétation, eau et air). Pendant leurs voyages, sur une superficie qui peut atteindre 7 km², les abeilles récoltent les substances potentiellement polluées et interceptent sur leur corps des particules aérodispersées. Tous les produits récoltés sont ramenés dans la ruche sur la base de critères contrôlables, à la disposition du chercheur.

Pour donner une idée des activités d'une colonie, on peut indiquer qu'une ruche compte environ dix mille butineuses qui effectuent un millier de voyages chacune par jour, ce qui correspond à un total de dix millions de microprélèvements par jour.

Depuis une vingtaine d'années environ, notre groupe de recherche, qui opère en Italie, étudie l'utilisation des abeilles comme indicateurs biologiques des antiparasitaires, des métaux lourds et des radionuclides dans de nombreuses régions. Récemment, les recherches ont



été étendues aux IPA (hydrocarbures polycycliques aromatiques) et aux bactéries (micro-organismes phytopathogènes).

Domaines d'utilisation

SUBSTANCES PHYTOSANITAIRES

Les abeilles sont extrêmement sensibles aux anti-parasitaires. Le nombre d'abeilles mortes devant la ruche est par conséquent la variable la plus importante pour ce qui touche à ces agents polluants, paramètre qui peut varier en fonction de divers facteurs : la toxicité, pour les abeilles, du principe actif utilisé (DL50), la présence et l'extension des floraisons de plantes spontanées ou cultivées, la présence des abeilles sur les plantes durant les traitements chimiques, les moyens utilisés pour l'épandage du produit, la présence éventuelle de vent, etc. Les abeilles sont directement touchées par l'insecticide au moment où elles butinent et meurent le plus souvent sur place ou durant le vol de retour. Les abeilles contaminées de manière marginale meurent en revanche dans la ruche. Dans ce cas, l'abeille fait office d'indicateur direct.

Dans le cas des produits non excessivement dangereux pour les abeilles, elles font office d'indicateur indirect, à savoir qu'elles ne sont pas sensibles mais exposées et qu'elles fournissent de la sorte des indications sous la forme de résidus qui permettent d'attester la présence des molécules correspondantes dans l'environnement.

Une telle stratégie permet de recueillir un grand nombre de données : le degré de mortalité hebdomadaire, les principes actifs responsables de la mort des abeilles, les périodes et les zones de risque, les cultures traitées et les erreurs de traitement phytosanitaire commises par les agriculteurs. Il est possible par ailleurs d'appliquer des indices spécifiques pour évaluer le degré de pollution environnemental.

En Italie, les résultats obtenus en recourant aux abeilles comme indicateurs biologiques des pesticides dans l'écosystème sont très nombreux. Depuis 1980, ce type d'étude a été mené dans une quarantaine de provinces, pour la plupart dans les régions nord. Ces études ont permis



Underbasket

d'établir quels étaient les principes actifs les plus utilisés dans les régions qui font l'objet des monitorages. Il a par ailleurs été possible d'établir que les principes actifs les plus présents dans les échantillons d'abeilles mortes étaient également les plus vendus sur le territoire de référence, ce qui apporte la confirmation de l'efficacité des abeilles comme indicateurs biologiques des pesticides.

Dans la province de Forlì, qui compte de très nombreuses cultures fruitières, l'étude a été menée de manière ininterrompue pendant douze ans, avec le concours des pouvoirs publics au niveau provincial, et a permis de mettre en évidence une diminution de la contamination induite par les pesticides dans l'agro-écosystème, ce qui témoigne d'une prise de conscience des agriculteurs, davantage soucieux aujourd'hui du choix de produits phytosanitaires adaptés et de leur bonne utilisation, afin de respecter l'entomofaune et de préserver l'environnement.

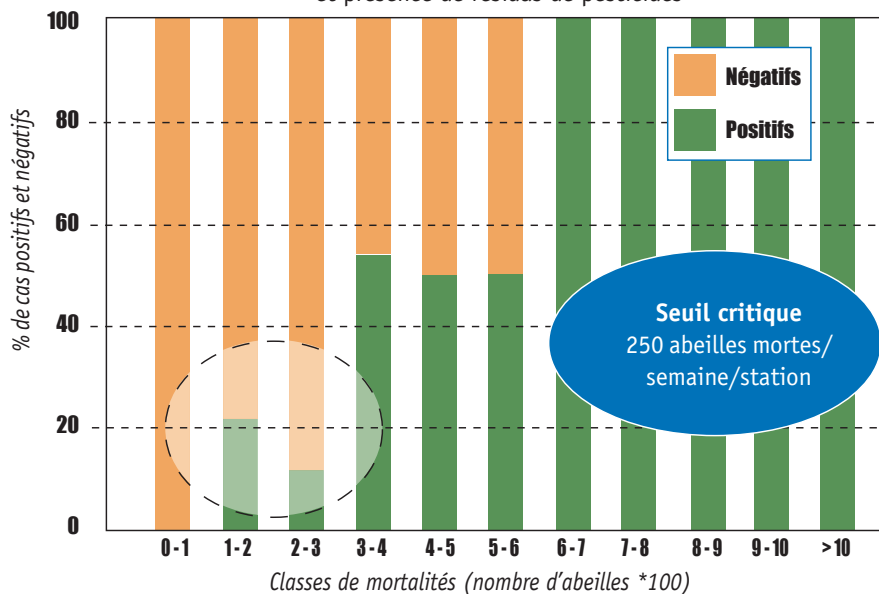
La mesure du taux de mortalité, difficile puisque les abeilles tuées hors de la ruche par les insecticides à effet immédiat

échappent au décompte, est effectuée à l'aide de cages de collecte des abeilles mortes (l'abeille atteinte par une molécule toxique cherche d'habitude à rentrer dans la ruche). Plusieurs types de cages sont disponibles (Gary, Underbasket et autres).

Actuellement est appliqué en Italie un protocole qui prévoit l'utilisation de cages de collecte des abeilles mortes, l'évaluation du seuil critique de mortalité, l'analyse chimique des abeilles pour la recherche du principe actif et l'analyse du pollen présent sur le corps des abeilles en vue d'identifier la zone de butinage, qui sera ensuite repérée sur une carte des cultures préalablement élaborée. Le dépassement du seuil critique de mortalité qui justifie l'analyse chimique a été fixé à 250 abeilles mortes par semaine sur des stations de monitoring constituées de deux ruches.

Il convient de souligner, dans le cadre des activités de monitoring, l'importance des analyses chimiques et polliniques compte tenu des données essentielles qu'elles sont en mesure de fournir.

Rapport entre nombre d'abeilles mortes et présence de résidus de pesticides



Un autre but de ces enquêtes est de construire des cartes territoriales et temporelles des dangers auxquels les abeilles sont exposées. Ces cartes sont conçues sur la base d'un indice de dangerosité environnementale qui met en relation le taux de mortalité moyen de la période et l'indice de toxicité du pesticide. Elles permettent par conséquent une représentation fidèle de l'intensité des traitements phytosanitaires in situ et donc une indication du danger toxicologique pour les habitants des zones concernées. Dans le cadre des études que nous avons menées, les résultats obtenus ont non seulement permis d'établir quels étaient les principes actifs les plus utilisés, les périodes et les zones dangereuses, mais ils ont également confirmé que l'abeille peut être un excellent indicateur des substances introduites dans l'environnement.

Dans le secteur des produits phytosanitaires utilisés en agriculture, ces dernières années ont vu la commercialisation de principes actifs et de formulations qui ont certes permis de réduire les quantités de produits utilisés et leur dispersion dans l'environnement mais qui par ailleurs, sans pour autant augmenter le taux de mortalité des abeilles, infligent à celles-ci des dommages plus sournois qui permettent difficilement d'établir des rapports de cause à effet en temps réel. Ainsi convient-il d'évoquer l'utilisation des micro-encapsulés, des produits de traitement anticryptogamique des graines et des régulateurs de croissance (IGR). A l'heure actuelle, les activités de monitoring ne peuvent se limiter à l'évaluation du taux de mortalité mais doivent s'étendre à la force des colonies.

L'IMIDACLOPRIDE ET LES ABEILLES

C'est en 1999 que de nombreux apiculteurs des régions Frioul, Vénétie et par la suite également de la région Émilie-Romagne ont commencé à signaler des vagues de grande mortalité d'abeilles ainsi que des dépeuplements de ruches. La plupart de ces phénomènes ont été observés au mois de mars, c'est-à-dire au moment des semis de maïs traité au GAUCHO® dont le principe actif est l'imidaclopride, et à proximité de cette culture. L'élément le plus important des observations des apiculteurs, y compris lors des années suivantes, est la coïncidence entre les effets observés et les semis de maïs. On

a par ailleurs constaté que les effets les plus graves se sont manifestés quand les semis sont intervenus durant une période de sécheresse.

A l'issue de différentes recherches menées par la suite, en laboratoire et sur le terrain, on a pu observer que les abeilles traitées ou nourries par des doses d'imidaclopride faisaient apparaître d'évidentes altérations comportementales, tant en laboratoire qu'en liberté (aussi, totalement désorientées et dans l'impossibilité de retourner à la ruche, elles disparaissaient). Ces effets étaient très semblables à ceux signalés par les apiculteurs qui avaient pu observer le dépeuplement de ruches ainsi que le comportement anormal des butineuses sur la planche de vol.



Des tests ont également été effectués pour attester les éventuelles contaminations environnementales par l'imidaclopride pendant la période de semis de maïs traité au GAUCHO® : des traces de la molécule correspondante ont été trouvées sur des filtres de papier appliqués sur une semeuse pneumatique (voir photo ci-dessus) ainsi que dans des échantillons d'herbe et de fleurs prélevés à proximité du lieu de semis, le jour même des semis et les jours suivants. L'analyse des feuilles et des fleurs de maïs nées de semences traitées a permis de mettre à jour la présence d'imidaclopride dans les feuilles mais pas dans les fleurs de maïs.

Les tests effectués ont par conséquent permis d'attester l'existence d'une contamination environnementale provoquée par des semences traitées au GAUCHO®, qui pourrait expliquer les effets nuisibles subis par les abeilles durant les périodes de semis du maïs. Ainsi, l'accumulation du principe actif sur la flore spontanée tout autour des champs de maïs, en particulier lors des printemps caractérisés par de faibles précipitations, pourrait expliquer

l'empoisonnement des abeilles qui récoltent nectar, pollen ou rosée en se posant sur les plantes sur lesquelles le principe actif s'est accumulé. Le contact avec ce même principe actif, même en quantité limitée, pourrait être à l'origine des troubles comportementaux observés chez les abeilles lors des tests décrits et les mettre dans l'impossibilité de retourner à la ruche. Si elle s'avérait exacte, une telle hypothèse expliquerait les phénomènes signalés par les apiculteurs lors des années de sécheresse printanière.

Il s'agirait par conséquent d'un cas dans lequel la mesure de la pollution environnementale n'est ni immédiate ni directe, un cas qui nécessite des analyses spécifiques mais dans lequel les abeilles font tout autant office d'indicateurs.

LES MICRO-ENCAPSULÉS

Dans différentes régions viticoles ont été menées des études visant à évaluer le rapport entre le taux de mortalité des abeilles et les traitements phytosanitaires. Ces dernières années en effet, de nombreux apiculteurs ont signalé des pics de mortalité chez les abeilles à l'occasion des traitements effectués sur la vigne contre le *Scaphoideus titanus* Ball, vecteur de la flavescence dorée. En 2002 et 2003, une étude de monitoring a donc été menée dans différentes régions viticoles par la mise en œuvre d'un protocole spécialement défini à cet effet.

Dans la plupart des cas, il a été possible d'établir un lien entre ces pics de mortalité et les traitements effectués sur la vigne, compte tenu de leur coïncidence, par la présence, dans certains cas, de pollen de vigne sur le corps des abeilles (indice de traitement durant la floraison) et enfin parce que les principes actifs trouvés sur les abeilles correspondaient à ceux utilisés par les viticulteurs : le chlorpyrifos-éthyl, le diméthoate, le méthyl-parathion et plus particulièrement le fénitrothion, utilisés aussi bien en formulation micro-encapsulée qu'en émulsion concentrée.

Les résultats obtenus ont permis d'établir

- que les micro-encapsulés sont en général dangereux pour les abeilles puisqu'ils restent présents plusieurs jours après le traitement (la toxicité pour les abeilles dépendant toutefois du type de micro-encapsulé) ;



- que des abeilles peuvent transporter, avec le pollen ou le nectar, les microcapsules (qui libèrent progressivement le principe actif) à l'intérieur de la ruche et les transmettre aux autres abeilles ;
- enfin, que la propriété électrostatique des microcapsules facilite la fixation de ces dernières sur le corps des abeilles.

LES RÉGULATEURS DE CROISSANCE

Ces dernières années, certains éleveurs de reines ont remarqué, au mois de juin, la présence d'abeilles, reines en particulier, atteintes de malformations. Sur la base des informations fournies par les services phytosanitaires régionaux, le phénomène serait lié, dans la zone concernée et durant la période immédiatement précédente, à de fréquents traitements phytosanitaires sur les cultures fruitières (de pêches en l'occurrence) et sur les vignes à l'aide d'IGR (régulateurs de croissance des insectes).

Pour vérifier cette hypothèse, une expérience a été menée l'année dernière : on a administré aux larves de la gelée royale additionnée de régulateurs de croissance parmi les plus utilisés en agriculture, à différents degrés de concentration. En effet, bien que les tests de routine pour le contrôle de ces insecticides aient démontré l'absence de toxicité pour les abeilles adultes, il n'est pas exclu que les larves puissent être sensibles à de faibles doses de ces principes actifs transportés par les abeilles butineuses. Ces produits agissent en effet sur les organismes cibles lors des phases de mue.

Lors de l'expérimentation, répétée, étendue et modifiée cette année sur la base des expériences précédentes, on a pu observer des cas de retrait des larves par les ouvrières ainsi que des cas de naissances de reines atteintes de malformations au niveau des pattes et connaissant des problèmes de déambulation.

Dans de tels cas, il est extrêmement important de disposer de données expérimentales fiables, de telle sorte que les services phytosanitaires puissent recommander le recours à des produits à la fois efficaces et sans danger pour les abeilles.

LES MÉTAUX LOURDS

Une des caractéristiques essentielles qui distingue les métaux lourds des autres agents contaminants tels que les pesticides est le type d'émission sur le territoire et le « destin environnemental ». Les produits phytosanitaires sont appliqués de manière circonscrite, aussi bien dans le temps que dans l'espace et, en fonction du type de molécule chimique, de sa stabilité et de ses affinités avec l'organisme cible et avec l'environnement, ils sont dégradés, plus ou moins rapidement, par différents facteurs environnementaux. En revanche, les métaux lourds sont émis de manière constante par différentes sources naturelles et anthropiques et, sans subir de dégradation, sont constamment réintroduits dans les cycles physico-biologiques.

Les métaux lourds peuvent être soit captés par les abeilles dans l'atmosphère, par les poils dont leur corps est revêtu, et transportés dans la ruche avec le pollen, soit ingérés lorsqu'elles prélèvent le nectar des fleurs, l'eau de flaques, de fossés ou de ruisseaux, ou encore le miellat des aphidius.

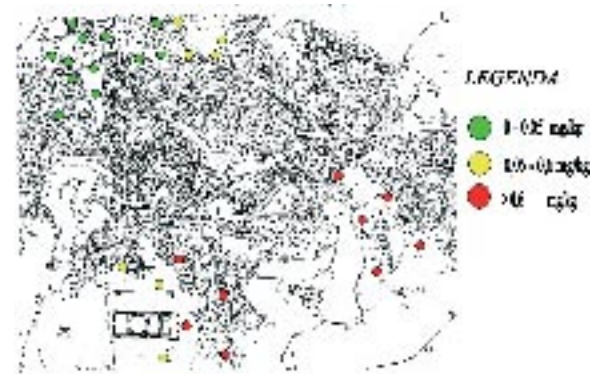


Les variables dont il faut tenir compte pour utiliser les abeilles ou les produits de la ruche tels que le miel comme indicateurs biologiques sont nombreuses : ainsi les phénomènes météorologiques (la pluie et le vent pouvant nettoyer l'atmosphère et déplacer les métaux lourds dans d'autres environnements), les saisons (le flux nectarifère, généralement plus important au printemps qu'en été et en automne, peut,

à des degrés d'émission identiques, diluer plus ou moins les agents contaminants) et l'origine botanique du miel (la miellée des aphidius, ainsi que le nectar des fleurs à morphologie ouverte, est davantage exposée aux agents contaminants que le nectar des fleurs à morphologie fermée).

Des enquêtes qui ont été effectuées dans de nombreuses villes d'Italie ont presque toutes montré que les centres villes sont beaucoup plus pollués que les sorties d'autoroutes, par exemple, ou les zones à proximité des incinérateurs de déchets, aux abords des périphéries.

Ville de Cesena



Abeilles et miel peuvent être utilisés pour le monitoring de la pollution induite par les métaux lourds. Les données obtenues par le biais des deux matrices peuvent en effet être complétées pour disposer de plus amples informations quant à la présence d'agents contaminants dans l'atmosphère. Le miel fournit une valeur moyenne relative à une zone très étendue puisqu'il provient de nectar récolté par les abeilles à différents endroits pendant plusieurs jours. Les abeilles peuvent en revanche fournir des informations plus détaillées puisque le contact avec les agents polluants se réfère aux quelques jours qui précèdent leur capture.

LES RADIONUCLIDES

En Italie, les activités de contrôle de la contamination radioactive, menées en collaboration avec les associations d'apiculteurs, ont été entamées à proximité de deux centrales nucléaires (Trino Vercellese et Caorso), quelques années avant la catastrophe de Tchernobyl. Les mesures radiométriques effectuées sur des échantillons de miel, de cire, sur des larves et sur des abeilles n'ont jamais permis de relever la présence d'une quelconque activité. Mais la catastrophe de Tchernobyl

(avril - mai 1986) a apporté la preuve que les abeilles peuvent être utilisées de manière très efficace pour détecter la présence de radio-isotopes dans l'environnement.

De multiples expériences ont ensuite été menées dans de nombreux pays, tant pour la mesure des éléments radioactifs présents dans les produits de la ruche et les processus de transfert correspondants que pour l'utilisation des colonies d'abeilles comme indicateur biologique.

Une recherche menée par notre groupe au moment de la catastrophe de Tchernobyl a permis de montrer clairement, à travers l'analyse de très nombreux échantillons de miel, de cire et de pollen, que cette dernière matrice est la mieux adaptée comme indicateur de la présence de radionuclides dans l'atmosphère puisqu'elle reflète fidèlement celle de l'air. Les abeilles aussi peuvent être utilisées avec profit à cet effet : ainsi en mai 1998, dans des échantillons d'abeilles capturées par les stations de monitoring environnemental de la province de Bologne, on a décelé une présence anormale de Césium 137. Ce radionuclide artificiel est un des principaux produits radioactifs des réactions de fission induites dans les réacteurs nucléaires. On a pu exclure que la radioactivité constatée provenait de sites nucléaires en activité puisque le Césium 137 n'était pas accompagné des autres radionuclides produits lors de la fission. Le phénomène a par contre été mis en relation avec

un accident intervenu, à la fin du mois d'avril, dans une aciérie d'Algeciras dans le sud de l'Espagne (émission de Césium 137 par des matériaux provenant d'une centrale désaffectée et utilisés en fonderie). Les niveaux de radioactivité étaient négligeables, inférieurs au seuil minimum d'alerte, mais la matrice abeilles avait permis de mettre aussitôt en évidence la présence, même minime, de Césium 137 dans l'environnement, avec une fiabilité supérieure aux techniques traditionnelles de monitoring.

LES MICRO-ORGANISMES

Erwinia amylovora (EA) est l'agent responsable du feu bactérien, la maladie bactérienne la plus destructrice des rosacées, en particulier des poiriers, des pommiers et des plantes ornementales. On sait que les abeilles sont des vecteurs potentiels de EA et c'est pour cela qu'une réglementation a limité les mouvements de colonies d'abeilles dans les zones où la présence de EA a été détectée.

Une étude a donc été entamée, dans laquelle les abeilles ont été utilisées comme indicateur précoce de la maladie. Des stations d'échantillonnage ont été installées au sein de la zone infectée et à ses abords. Le pollen récolté dans les ruches à une fréquence hebdomadaire (du mois d'avril au mois de juillet) a été utilisé comme matrice. Les échantillons de pollen ont été examinés en vue de déterminer d'une part la présence de la bactérie et, d'autre part, grâce aux analyses palinologiques, les espèces visitées par les abeilles.



ment contrôlées grâce à l'utilisation de ruches qui permettent ainsi de prévenir le développement de la maladie. On peut donc affirmer que le pollen représente une matrice efficace, facile à utiliser et capable de détecter la présence de cette maladie bactérienne.

CONCLUSIONS

Nous avons présenté ci-dessus les exemples les plus communs de monitorages réalisés par l'intermédiaire des abeilles : en réalité, une fois définies la matrice et les techniques d'analyse les mieux adaptées, les possibilités d'application dans ce domaine sont sans limites.

Ainsi envisage-t-on la possibilité d'établir la présence de particules d'amiante au sein de zones industrielles et récemment, l'Institut supérieur de la santé nous a demandé d'étudier la possibilité de rechercher les spores de *Clostridium botulinum* dans l'environnement.

Il s'agit de domaines d'étude et d'application passionnants susceptibles de fournir des résultats extrêmement intéressants à plus d'un titre. Un premier aspect de l'utilisation des abeilles comme indicateur biologique concerne les effets sur les abeilles elles-mêmes et constitue une forme de contrôle des causes de mortalité ou des effets dommageables subis par les abeilles. Le second aspect, sans lien avec les activités de production du secteur, mais plus important sur le plan social, concerne le contrôle de l'état de santé de l'environnement et de ses habitants.



On a pu constater qu'au moins un échantillon de pollen provenant de toutes les ruches placées dans les zones infectées s'avérait positif au test. Un échantillon de pollen récolté dans une région limitrophe, qui ne semblait pas être contaminée, s'avéra positif. Dans cette région, la maladie se déclara quelques mois plus tard. Les limites des régions frappées par le feu bactérien peuvent donc être constam-