

S.A.P.M.P.
Syndicat des des Apiculteurs
de Professionnels de Midi Pyrénées

Délégation Régionale Midi Pyrénées du [SPMF](#)

Dossier Spécial Février 2002
Abeilles et Produits Phytosanitaires

- 1 Février/mars 1979** **ÉTUDE DE LA MALADIE DES ABEILLES QUI DISPARAISSENT AUX USA.** Par William T. Wilson et Diana. M. Menapace. Traduction François Servel Apiculteur professionnel.
- 2 Avril 1982** **MÉTHODE N° 95 DE LA COMMISSION DES ESSAIS BIOLOGIQUES (DITE CEB 95)**
- 3 Mars 1983** **COMPILATION DES SYMPTÔMES.** CETA Aquitaine
- 4 1984** **Effets de la PERMETHRINE sur le comportement d'abeilles APIS MELLIFERA individuellement identifiées.** (Extraits). Robert L. COX et William T. WILDON. Du laboratoire de recherches agricoles du ministère de l'Agriculture (UDSA) Université de Laramie (Wyoming-82071). Traduction, apiculteur professionnel.
- 5 Juin 1985.** **TRAVAUX DU CNEVA/LPPRA SUR LA DELTAMETHRINE.** (Conclusion extraite de la publication intégrale sur bull. lab .Vet N° 18, Juin 1985)
- 6 Octobre 1985** **PESTICIDES ET ANALYSES TOXICOLOGIQUES.** Note d'information du CNEVA.
- 7 Janvier 1986** **METHODOLOGIE ABEILLES. MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE/ SERVICE PROTECTION DES VÉGÉTAUX/DSV/INRA/DGCCRF.**
- 8 1987/1988** **ENQUÊTE ECOPATHOLOGIQUE PORTANT SUR UNE ANNÉE, 17 RUCHERS REPARTIS SUR 10 DEPARTEMENTS.** CNEVA
- 9 1989** **RÉCAPITULATIF DES DL50.** CNEVA
- 10 Juin 1991** **NOTE DE L'INRA SUR L'ÉTAT ACTUEL DE L'EVALUATION DES EFFETS DES PESTICIDES SUR L'ABEILLE**

- 11 Mars 1992** SYNTHÈSE DES TRAVAUX DES 10 DERNIÈRES ANNÉES. CNEVA
- 12 Mars 1992** VUE D'ENSEMBLE DES CONNAISSANCES EN TOXICOLOGIE DE L'ABEILLE. INRA
- 13 1998/1999.** RÉSUMÉ DE TERRAIN à propos de " l'enquête Charentes ", menée par l'AFSSA.
- 14 Septembre 2001** COMMUNICATION DE LA COORDINATION DES APICULTEURS AUX MEMBRES DU COMITÉ DE PILOTAGE DE L'ÉTUDE MULTIFACTORIELLE
- 15 Janvier 2002.** " ON NE PEUT PAS CONCLURE ". Point de vue personnel. Joël Schiro

Depuis 1997, " l'actualité phyto ", vue sous l'angle de la protection de l'abeille en tout cas, tourne quasi exclusivement autour du débat sur l'éventuelle toxicité ou non toxicité des molécules systémiques d'enrobage de semences (Imidaclopride et Fipronil). Cette affaire est née dans une région, la Vendée et les départements limitrophes, qui, jusque là, semblait épargnée. (Ceci, sous réserve que l'on soit bien informé. Il est possible qu'il y ait eu, localement des empoisonnements par le passé, qui n'aient pas été suffisamment signalés nationalement). A l'heure où le débat se focalise sur la participation ou non de l'apiculture à une grande enquête multifactorielle proposée par le ministère de l'agriculture, il n'est pas inutile de prendre un peu de recul. En effet, les actions menées ces vingt dernières années à l'initiative d'autres régions, qui subissent, depuis longtemps, " les effets non intentionnels des pesticides " sur les abeilles ne manquent pas. Il convenait de faire court, et le choix des textes proposés ci-après n'a pas été facile.

Les « effets non intentionnels » des pesticides sur abeilles ne datent pas d'aujourd'hui et ne sont pas exclusifs de la France. Le malentendu et les querelles entre apiculteurs et scientifiques non plus. Lorsque, en 1981, la profession a désigné la « nouvelle génération d'insecticides » et en particulier la DELTAMÉTHINE(1) comme principale cause des pertes de colonies, les firmes phytosanitaires, quasiment dans les mêmes termes qu'aujourd'hui nous ont répondu « maladies ». A l'époque, la maladie avait même un pays d'origine aux chercheurs réputés, les USA, un nom, « Disappearing disease », ou maladie des abeilles qui disparaissent, et même pour ses plus zélés partisans, un agent pathogène probable : les spiroplasmes. Cette « maladie » a même fait l'objet d'enquêtes très poussées, sans convaincre outre mesure les professionnels interrogés.

(1). Les apiculteurs ne se sont jamais prononcés sur la dangerosité comparée des divers pyréthroïdes. La DELTAMÉTHRINE était simplement, et de très loin, le plus utilisé d'entre eux. C'est la raison pour laquelle elle a été davantage étudiée.

Etude de la Maladie de la Disparition aux USA

Par William T. Wilson et Diana M. Menapace

American Bee Journal

Février / mars 1979



Introduction

A la suite de pertes inexplicables (600 ruches sur 3500) dans la vallée du Rio Grande (sud du Texas) un apiculteur transhumant contactait en avril 1973 le Laboratoire de Pathologie et d'Intoxication des Abeilles à Laramie (Wyoming). Ses colonies s'étaient développées très tôt dans l'année grâce aux sources naturelles de nectar et de pollen. C'est au moment où il y eut un retour de froid peu conforme à la saison (de 4° à 15°C le jour et de -1° à 4°C la nuit) et un temps pluvieux pendant près de 15 jours qu'il constata un déclin rapide des populations d'abeilles adultes, au point que les colonies ne devinrent qu'une poignée d'abeilles autour de la reine. Il n'y avait que quelques dizaines d'abeilles mortes au fond et à l'entrée des ruches. Malgré plus de 30 ans d'expérience, cet apiculteur se trouvait dans l'incapacité de maîtriser l'effondrement des populations même en les nourrissant avec du sirop complété de pollen pendant plusieurs semaines. Les conditions ne s'améliorèrent qu'avec les transhumances dans le Nebraska au moment des miellées d'été et le retour du temps chaud (26 à 36°C le jour et 18 à 29°C la nuit). Il avait observé pendant plus de 10 ans ce phénomène de déclin des populations et constaté que chaque année un plus grand nombre de ruches étaient affectées par ce mal, 1973 étant la pire. Par communication téléphonique avec l'auteur, il expliqua que 2 autres gros apiculteurs professionnels transhumants dans la vallée du Rio Grande (donc exposés aux mêmes conditions climatiques) étaient confrontés aux mêmes problèmes. Chacun de ces apiculteurs affirmait que ces pertes étaient sans rapport avec des épandages d'insecticides.

A la demande de l'auteur, les apiculteurs concernés envoyèrent plusieurs centaines d'abeilles (les unes mortes et les autres vivantes) au Laboratoire de Laramie, durant le printemps 1973 ainsi qu'en 1974, en vue d'un examen microscopique de l'appareil digestif, de l'hémolymphe, des trachées respiratoires et des organes extérieurs. Les examens ne révélèrent aucun micro-organisme et aucun parasite qui puisse expliquer les pertes d'abeilles. Quelques abeilles portaient cependant quelques germes de *Nosémose*.

Par la suite, 4 apiculteurs du Montana, constatèrent les mêmes dépopulations en 1973 et 1974 après un retour de froid et de pluie en mai, qui faisait suite à un hiver doux. Les apiculteurs firent part de la perte de plusieurs centaines de colonies qui n'étaient pas dues à un manque de pollen ou de miel. L'inspecteur apicole de cet Etat ne découvrit aucune maladie infectieuse, ni aucune intoxication. Quelques ruches

seulement se trouvaient à proximité de prairies cultivées où les épandages d'insecticides étaient minimes voire inexistantes.

Durant la même période quelques autres cas de dépopulations nous furent signalés dans d'autres régions des USA (Nebraska...) et en Australie. Aussi, l'auteur s'est mis à chercher dans la littérature apicole des informations sur ce mal qui est désormais appelé " maladie de la disparition " (disappearing disease). On ne commença des études que plus tard quand on s'aperçut que la maladie se propageait dangereusement. Nous communiquons ci-dessous les résultats des recherches bibliographiques, décrivons le protocole de l'étude engagée, publions les résultats du questionnaire et discutons leurs implications.



Recherches bibliographiques

Les maladies infectieuses des abeilles sont devenues bien connues depuis les études de Cheshire et Cheyne (1885), les observations de Zander (1909) sur le *Nosema Apis* et les classiques séries d'articles sur les maladies des abeilles écrites par G.F. White au début du siècle. Néanmoins la bibliographie de la fin du 19^{ème} siècle et du début du 20^{ème} révèle des pertes inexplicables d'abeilles. (Hart 1893, Lowell 1894, Aikin 1897, Benhne 1910). Durant la même époque A.I. Root (1903) qualifia des pertes de butineuses jusque là inexplicables de " déclin printanier " (spring dwindling). Il remarquait que ces pertes se produisaient durant les périodes froides (février à juin) dans les Etats du Nord et pensait que c'était le résultat de l'élimination naturelle de vieilles abeilles, des reines défaillantes, de populations " démoralisées " et des butineuses incapables de rentrer à la ruche à cause du froid. Plus tard, Root et Root (1917) établirent que le déclin printanier n'était pas une maladie, mais la conséquence d'un long confinement se traduisant pas la dysenterie. Cependant, en 1935, ils reconsidérèrent leurs propos en distinguant le problème du déclin printanier de celui de la dysenterie qui est une maladie. Ils attribuèrent à la mortalité des vieilles abeilles ou à un manque de pollen un " déclin hivernal " (winter dwindle) qui se produisait dans les Etats où sévissent des climats semi-tropicaux, comme la Californie et la Floride. En réalité, le terme " maladie de la disparition " a été déjà utilisé par Root et Root en 1935 pour qualifier une attaque de *Nosérose* suivie de perte de butineuses qui s'arrêta au bout de 15 jours. Ils firent aussi la différence entre la maladie de la disparition et le mal de mai (bee paralysis) qui était un mal plus persistant. Les mortalités décrites depuis longtemps avaient donc plusieurs noms. Divers symptômes ont été décrits : gonflement de l'abdomen (Lowell 1894, Root & Root 1920, Bailey 1963) ; fortes pertes d'abeilles adultes (Root 1903) manque de provision de pollen (Root 1920 et Goodacre 1940) ; abeilles avec des ailes de travers courant devant les entrées de ruches (Root & Root 1935) ; désordres digestifs dus à des micro organismes et problèmes de provisions (Goodacre 1943) et enfin parasitisme (Howard 1920).

Plus récemment en France, Mathis (1975) remarquait de sérieuses mortalités de

butineuses en été dues au parasitisme important d'une mouche *Senotainia triscupis*. Riedel et Shimannki (1966) firent des remarques similaires concernant le parasitisme de diptères sur des butineuses, en été dans le Wyoming. Mais dans ce cas, seulement 7.8% des 500 abeilles examinées étaient parasitées. Cependant un tel parasitisme n'arrive qu'en été et des larves de ces mouches sont facilement visibles à la dissection.

Il y a évidemment quelques similitudes entre les symptômes de déclin décrits par Root et d'autres auteurs, et les témoignages des apiculteurs du Texas, Nebraska et Montana en 1973 et 1974. Mais les symptômes de la maladie de la disparition, comme nous la considérons nous-mêmes, ont été notés avec précision par Oertel (1965) et Foote (1966) sur un nombre de 4 à 5000 colonies en Louisiane et de 1000 colonies en Californie pendant l'hiver 1964-65. Les 2 apiculteurs de renommée nationale, parlaient de conditions particulières des abeilles dont ils ne s'étaient pas aperçus auparavant. En réalité, Oertel remarquait que le déclin hivernal et le déclin printanier de Root étaient 2 choses différentes. Foote en 1966 remarqua les premières affections de ce mal durant l'hiver 61-62 quand il découvrit des colonies perturbées en grand nombre dans des ruchers de la vallée de Sacramento (Californie) dont ceux de l'Université de Californie Davis. De tels dommages furent également remarqués dans les ruchers du Ministère de l'Agriculture à l'Université de Louisiane à Bâton Rouge. Foote nomma ce phénomène l'effondrement automnal (autumn collapse) ou maladie de la disparition, tandis qu'Oertel l'appela le dépérissement (fall dwindle). Tous deux établirent que les butineuses étaient mortes aux champs car ils ne trouvèrent seulement que quelques dizaines d'abeilles mortes au fond ou à l'entrée des ruches. Les 2 observateurs examinèrent alors les abeilles mortes, les abeilles vivantes qui restaient, les provisions de miel et de pollen et constatèrent avec évidence que le phénomène n'était pas imputable aux pesticides et autres agents pathogènes. Une exception est celle du champignon *Aspergillus Flavus* qui fut isolé dans des abeilles mortes devant des colonies en Californie, au moment de l'effondrement des colonies, mais A.F n'a jamais été identifié comme l'agent de la maladie de la disparition. De plus, depuis aussi longtemps que les maladies d'abeilles sont connues, personne n'a jamais attribué de mortalité ni à *Aspergillus Flavus*, ni à *Aspergillus Parasiticus*. (Gunst 1978).

Semblables à ces témoignages de maladie de la disparition dans les années 60, nous avons connaissances de nombreux autres cas dans les années 70. Récemment Foore (1977) et Roberge (1978) firent part de cas particuliers et publièrent des articles sur l'ensemble du problème de la maladie de la disparition. En 1974 Katzenelson constata en Argentine, un problème qu'il nomma " dépopulation " en croyant que la Loque américaine ou les pesticides en était la cause. En 1976 Olley (Australie) et Katzenelson (étudiant mieux le problème en Argentine) mirent tous deux en cause un virus, bien que Foote (1966) affirmait le contraire après ses analyses au Laboratoire de Beltsville. Mraz suspecta aussi les virus de la paralysie (mal de mai) mais ne trouva aucune abeille paralysée dans ses colonies atteintes de disparition au Mexique. A l'inverse, Clarck (1977-78) isola un nouveau virus et un spiroplasma

sur les butineuses. Pendant ce temps Kauffeld (1976) démontra que le problème de la disparition n'était ni contagieux, ni imputable à des résidus de pesticides. D'autres explications ont été émises. Kauffeld, après avoir étudié sur les ruches de l'apiculteur qui nous avait contactés en 1973, conclut que c'était une carence alimentaire et principalement un manque de pollen qui était responsable de la maladie de la disparition. En fait, Kauffeld (1973) puis Stranger et Laidlaw affirmèrent que l'effondrement automnal ou maladie de la disparition pouvait être contrôlé grâce à des nourrissements supplémentés afin de développer le couvain, car le pollen est vital pour l'élévation du couvain et pour maintenir de puissantes colonies. Oertel (1965), Foote (1966) et Thunder (1976) n'avaient pourtant trouvé aucune corrélation entre la maladie de la disparition et les carences alimentaires ; de nombreuses colonies atteintes étaient pleines de miel et de pollen. L'auteur a rencontré (non publié) de nombreux cas typiques où les ruches avaient des provisions non seulement suffisantes, mais encore avaient des surplus de miel et de pollen. Ces colonies n'avaient pas de miellat dans leurs réserves, ce qui aurait pu, d'après Foote (1966) être la cause de symptômes. Enfin la dernière hypothèse fut émise en 1975 par l'auteur : la maladie de la disparition pourrait être due à une mutation délétère dans le pool génétique des abeilles nord-américaines (Witherell 1975 et Wilson 1976). Au Canada, Peer ne croyant pas qu'un changement génétique puisse être la cause de la maladie de la disparition, affirmait en 1977 que le problème était dû à une maladie inconnue. Thurber (1976), Wilson (1976), Foore (1977), Mraz (1977) et Roberge (1977) pensaient tous qu'une dégénération ou un changement génétique pouvait être la cause de la maladie de la disparition. Cette hypothèse n'a jamais été infirmée.



Protocole d'enquête

Comme dit ci-dessus, un questionnaire de 6 pages, comprenant 35 points fut envoyé à chacun des 50 inspecteurs apicoles des 50 états en 1975. Les réponses revinrent de 46 états, les inspecteurs touchèrent plus de 719 apiculteurs. Malgré une lettre d'information qui accompagnait le questionnaire, certains eurent des difficultés à répondre car ils n'avaient jamais entendu parler de ce problème, ou le connaissaient sous d'autres noms, ou n'avaient aucune données valables (certains états ne prennent en compte que les déclarations de Loque américaine).

Comme on pouvait s'y attendre quelques-uns répondirent avec de considérables détails. D'autres ne donnèrent seulement que de brèves réponses à quelques-unes des questions. Gérald Stevens, inspecteur de l'état de New York, envoya des copies du questionnaire à plusieurs apiculteurs professionnels et 7 d'entre eux nous répondirent directement. Ward Satherlee, inspecteur dans le Sud Dakota, résuma notre questionnaire en 13 courtes questions, et l'envoya à 240 apiculteurs dont 28 nous répondirent. Claid Burgin, ancien inspecteur au Texas, nous signala qu'en 1969 et 1970, il avait envoyé un questionnaire concernant ce problème. Bien que C. Burgin eut des réponses, nous n'en avons pas tenu compte.

Menapace et Wilson (1976) posèrent quelques questions dans les revues professionnelles, mais n'obtinrent que quelques réponses.

Les informations qui suivent proviennent des réponses des inspecteurs des différents états et des apiculteurs des Etats de New York et du Sud Dakota et de quelques autres qui contactèrent l'auteur directement.

Résultats

Les réponses à l'enquête indiquaient que la maladie de la disparition avait été observée par les inspecteurs et apiculteurs dans au moins 27 états (54%) et dans chaque région géographique des USA. Dans 4 autres états où les inspecteurs affirmaient ne pas l'avoir rencontrée, ils décrivirent cependant des symptômes de disparitions d'abeilles en période froide, où les colonies ne réussissaient pas à se développer, sans aucune raison identifiable. Dans 2 autres états les inspecteurs n'avaient pas rencontré la maladie de la disparition, mais les réponses d'un important éleveur de reines, et de plusieurs apiculteurs professionnels indiquaient que la maladie les avait affectés parfois gravement. 4 inspecteurs ne répondirent point.

- La première question que nous avons posé était la suivante : " Est-ce que des apiculteurs vous ont déjà contacté au sujet de populations qui s'affaiblissent, de disparition de butineuses, ou de colonies qui n'arrivent pas à se développer sans que les épandages de pesticides ou d'autres semblables facteurs nuisibles en soient la cause ? "
 - 27 réponses furent affirmatives.
 - 19 réponses furent négatives.

Parmi les 27 réponses affirmatives, 11 inspecteurs répondirent que les pesticides en était la cause, malgré la formulation de la question, et 9 citèrent la maladie de la disparition. Quelques inspecteurs mentionnèrent plus d'un facteur nuisible comme étant associé avec le déclin : Nosérose, manque de nourriture, froid en période habituellement douce et temps humide, mauvaise qualité des reines ou mort des reines, dysenterie, manque de pollen, défaut génétique, mycoses, développement limité du couvain, émissions de produits toxiques, faibles colonies, miellat, stress. Parmi les 19 réponses négatives, 4 incriminaient les pesticides comme seuls responsables de tels symptômes.

- 56 % (10 sur 18) des inspecteurs répondirent qu'ils n'avaient remarqué aucun effet contagieux après que les apiculteurs eussent transvasé les cadres et différents matériels dans des colonies saines. Un inspecteur répondit que les abeilles moururent de faim et un autre répondit que le développement des colonies était lent. 6 ne répondirent pas par manque d'information sur cette question.

- Le printemps est la saison la plus favorable à la maladie de la disparition, selon 13 inspecteurs sur 24. Le déclin des colonies a cependant été remarqué durant toutes les saisons : automne (2 réponses) hiver (3 réponses) et été (4 réponses). Sur ces quatre dernières réponses (été), 3 affirmèrent que les pesticides en étaient la seule cause. Les neuf inspecteurs (parmi les 14) qui accusaient la maladie de la disparition, constataient une inhabituelle et importante perte hivernale.
- Quand nous avons demandé si ce problème de déclin ou de disparition avait été remarqué dans le passé, 8 sur 18 répondirent qu'ils l'avaient constaté fréquemment durant les 5 dernières années. 5 dirent que la maladie de la disparition était un problème depuis plus de 5 ans, mais de moins de 10 ans, aussi, 4 dirent qu'il la voyait et qu'elle s'amplifiait depuis une quinzaine d'années. Un dernier répondit que le problème était présent depuis plus de 15 ans et l'attribuait à la Nosérose et au manque de provision. 66% de ceux qui l'ont constaté dans le passé, ont remarqué que le problème était plus grave selon les années. 16 sur 18 inspecteurs dirent que son importance restait la même et avait tendance à augmenter.
- A la question " Est-ce que les colonies affaiblies par la maladie de la disparition peuvent se rétablir ? " 13 sur 21 inspecteurs répondirent affirmativement. Ils dirent que quelques colonies se rétablirent spontanément et d'autres pour cela furent réunies entre elles. Même quand les ruches affaiblies réussissaient à se rétablir, elles parvenaient rarement à faire une récolte (à ce moment-là) selon 53% des réponses (8 sur 15). Quand une récolte de miel pouvait se faire, 5 sur 7 répondirent que les rendements de miel étaient réduits.
- 58% (14 sur 24) des inspecteurs qui connaissaient l'existence de la maladie de la disparition, dirent que les apiculteurs du Nord semblaient plus exposés au problème, et notamment ceux qui achètent leurs essaims et leurs reines dans le Sud. En réalité 17% des témoignages dirent que les apiculteurs qui divisent leurs colonies et élèvent leurs reines dans le Nord, ainsi que ceux qui transhument sont affectés par la maladie de la disparition. Seulement 8% des inspecteurs rapportèrent que les apiculteurs et éleveurs du Sud avaient ce problème.
- La plupart des inspecteurs (71%) indiquèrent que l'importance des pertes s'estimait entre 10 et 50% du cheptel. Quelques-uns l'estimèrent à moins de 5%. Bien que personne ne précisait s'il s'agissait de pertes d'abeilles ou de pertes de colonies, les pourcentages furent calculés en combinant les indications de 5 inspecteurs qui faisaient part de la perte de 2.450 ruches dans la pire année. De même selon 6 autres réponses plus de 10.100 colonies dans 6 états furent fortement affaiblies par la maladie de la disparition pendant la même année. 4 personnes répondirent que 27 à 50% des colonies périrent ou s'affaiblirent, un autre répondit " beaucoup " et deux manquèrent de chiffres précis. (Ces pourcentages ne font référence qu'aux apiculteurs qui ont eu des problèmes de disparition). 9 inspecteurs estimèrent à plus de 43.000 le nombre de ruches perdues durant la période 1970-75 dans leurs

états. Neuf autres inspecteurs donnèrent des pourcentages pour la même période allant de 1% à 20% de pertes.

Discussion

Une difficulté révélatrice, mais pas surprenante de notre étude, fut la confusion causée par la ressemblance des symptômes de l'intoxication et ceux de la maladie de la disparition. Pourquoi les pesticides sont-ils si souvent cités comme la cause première des problèmes de déclin des colonies et de disparition d'abeilles ? Dans le passé, les gens ont souvent " pensé " pesticides, souvent sans avoir recherché minutieusement tous les aspects des mortalités d'abeilles. En effet, si un répertoire d'inspecteurs apicole ne mentionne aucune information au sujet de la maladie de la disparition, les pertes d'abeilles risquent fort de n'être attribuées qu'aux seuls pesticides, à cause de la ressemblance des symptômes. Un inspecteur commenta " si vous n'avez jamais entendu parler de la maladie de la disparition, quoi d'autre que les pesticides pourrait expliquer la situation ? "

La colonie peut être réduite à une poignée d'abeilles et même disparaître complètement dans les 2 cas d'intoxication et de maladie de la disparition :

- Cependant dans les cas d'intoxications dues aux pesticides, il y a des traces évidentes d'épandages. On peut savoir s'il y a eut un épandage aérien sur une culture déterminée et trouver des résidus sur les plantes. Selon Atkins (1975) un empoisonnement peut-être suspecté quand le temps est chaud et sec depuis n'importe quelle durée et que les ruches sont disposées dans un champ en fleur ou à proximité. Quand les butineuses meurent aux champs et qu'elles disparaissent, on peut voir de nombreuses abeilles par terre dans la culture traitée et entre ceux-ci et le rucher, les nourrices restantes vivantes dans la ruche. Si les butineuses ramènent le poison, les nourrices meurent alors aussi dans la ruche ou à l'entrée et l'on peut constater beaucoup d'abeilles ayant les ailes écartées et maladroites ainsi que de grandes surface de couvain abandonnées. Une longue exposition aux pesticides peut affaiblir considérablement les colonies et même les tuer.
- Dans le cas de la maladie de la disparition, la situation est assez différente, les colonies viennent de traverser une période où elles ont récolté nectar et pollen et activement développé leur couvain. Puis le temps est devenu anormalement froid et humide pour la saison, en le restant entre 3 et 14 jours. Une telle situation arrive fréquemment au printemps. Pendant ce mauvais temps, les populations déclinent parce que les ouvrières disparaissent au point de ne laisser qu'une poignée d'abeilles et la reine. Souvent ces petites populations peuvent se rétablir pendant les périodes chaudes et les longues miellées, mais en cas de mauvaise miellée, elles peuvent ne pas s'en remettre et mourir. Quelques problèmes de disparitions ont été soulignés en cas d'hiver rigoureux, en partie parce que les abeilles

restaient trop actives au moment des températures froides (au-dessous de 0°C) et " disparurent " ainsi en ayant laissé des grappes perturbées. Ces abeilles peuvent avoir également une trop forte consommation de miel et peuvent mourir de faim au milieu de l'hiver, car leurs provisions d'environ 30 kilos n'étaient pas suffisantes.

Les examens d'abeilles n'ont révélé aucun agent pathogène et ceux-ci ne sont donc pas responsables de la maladie de la disparition. Plusieurs scientifiques (H.Shimannki, G.M.Thomas, A.S.Mickael, N.M.Kauffeld et l'auteur de cet article) ont vérifié les échantillons durant les années 60 et 70 et n'ont trouvé aucune relation avec *Noséma Apis* (seuls quelques échantillons portaient des N.A) bien que la *Noséme* puisse causer un certain type de dépopulation. Gochner (1975) Oertel (1965) et Foote (1966) ont éliminé également l'hypothèse du *Noséma* et des virus comme cause de la maladie de la disparition. Au laboratoire de Laramie, on ne trouva également aucune relation ni avec la dysenterie, ni avec un autre parasitisme dû aux diptères.

Quelques apiculteurs ont associé les mycoses (*Ascopheara Apis*) avec l'apparition de la maladie de la disparition (Wilson 1976). En fait, les mycoses sont apparues dans des colonies qui avaient déjà attrapé la maladie. Mais les renseignements fournis par le même laboratoire montrent qu'*Ascopheara Apis* n'est pas l'agent de la maladie de la disparition, bien que l'extension de ces deux maladies à travers les USA dans les années 60 ait été similaire. (Menapace et Wilson 1976 ; Foote 1977). Mraz (communication personnelle) nous a révélé au Mexique, une région où les deux maladies se trouvent souvent ensemble et où les populations d'abeilles semblent hautement sensibles à ces deux problèmes ainsi qu'à la Loque européenne.

D'après les témoignages des apiculteurs américains, le mauvais temps exerce un rôle significatif sur la maladie de la disparition. Le comportement habituel pendant une période de mauvais temps avec de basses températures est une réduction ou un arrêt de l'activité de butinage de pollen et de nectar, mais ceci n'affecte pas la population de la colonie. Les colonies sensibles à la maladie de la disparition perdent un nombre relativement important de butineuses quand le temps est froid, très humide et accompagné de quelques gelées, mais sans neige. La maladie de la disparition apparaît à des époques différentes suivant les aires géographiques et climatiques ; janvier et février dans les régions méridionales comme la Floride, et jusqu'aux mois de mai et juin dans les hautes vallées montagneuses du Montana ou du Wyoming. Mraz (1977) dans un très intéressant article raconte qu'au Mexique, le froid n'est pas un facteur influençant l'apparition de la maladie de la disparition. Il précise qu'au début février, des populations s'affaiblirent dans une région qui n'était pas soumise à un temps froid (il ne donne cependant pas les températures diurnes et nocturnes). Les ruches avaient du miel dans les hausses, mais n'avaient plus qu'une petite grappe d'abeilles et pratiquement plus de butineuses. Nous croyons quant à nous que c'est un retour de froid peu conforme à la saison (pas

forcément glacial) qui encourage la disparition des abeilles.

Habituellement, les ruches affectées par la disparition, contiennent de fortes populations d'abeilles et se sont développées avant l'arrivée du temps froid. Les pertes ne sont donc vraisemblablement pas dues à des reines défectueuses, ni à un faible développement du couvain, ni à un manque de pollen. Oertel (1965) et Foote (1966) ont démontré qu'une mauvaise nutrition n'est pas la cause de la maladie, car les abeilles qui ont tendance à sortir et à disparaître pendant les périodes froides, et leur incapacité à retourner à la ruche pourrait résulter d'un refroidissement pendant le vol, d'une insuffisance de miel dans le jabot au point de ne pouvoir supporter le retour, ou d'une mauvaise orientation ; tous ces facteurs étant d'ordre physiologique ou comportemental. Mraz (1977) affirmait qu'apparemment, les jeunes butineuses ne retournaient pas à la ruche durant leurs premiers vols. A notre avis de tels problèmes pourraient résulter de différences génétiques qui seraient révélées par un stress (c'est-à-dire le froid et l'humidité). Cette hypothèse est en train d'être étudiée. En effet, le laboratoire d'Élevage des Abeilles de Bâton Rouge et le Dr Walter Rothenbulla (de l'Université de l'Ohio) ont élaboré un projet de recherche en commun pour étudier les possibles causes génétiques, sans oublier l'aspect micro biologique et nutritionnel, ni le côté conduite des ruches (communication de E.C Martin du Laboratoire de Beltsville Maryland). C'est un travail d'une extrême difficulté, mais qui pourrait nous conduire à une meilleure connaissance de la maladie de la disparition.

Economiquement, ces mortalités d'abeilles et les mauvais rendements en miel engendrés par la maladie peuvent être assez considérables. Koote (1966) parlait de 10.000 ruches mortes en Californie, en 1 an, 9 inspecteurs parlaient de 43 colonies perdues en 5 ans dans 9 états, ceci représentant plus de 2 millions de dollars au prix d'aujourd'hui (début 1979). Nous croyons que ces chiffres sont partiels car la disparition sévit sur plus de 9 états et car nous connaissons un apiculteur qui a eu ce problème de dépopulation sur près de 7.800 colonies.

Certains inspecteurs et apiculteurs ont mis en doute l'existence de la maladie de la disparition en tant que maladie bien séparée des autres, comme Mickael (1966). Cependant, ceux qui ont été touchés par cette maladie n'ont aucun doute quant à son existence et à son importance. Mraz (1977) rappelle que la maladie de la disparition est un sérieux problème et que quelques apiculteurs mexicains ont fait appel à lui pour tenter de résoudre ce mal. Un grand apiculteur affirmait que la maladie de la disparition serait moins difficile à appréhender s'il existait à son sujet des signes évidents, comme la Loque américaine, qui sont appuyés par l'existence d'un agent pathogène facilement identifiable à l'examen microscopique. En effet, la maladie de la disparition présente une grande diversité de signes qui ne sont pas facilement identifiables et elle peut souvent être confondue avec d'autres problèmes de mortalités des abeilles.

Cela ne diminue en rien l'importance qu'elle a sur l'activité apicole et au contraire

cela va stimuler notre habilité à résoudre le problème, même au prix de nouvelles recherches dont nous avons encore besoin.



Conclusions basées sur les résultats de l'enquête

1. La maladie de la disparition est une maladie des abeilles distincte et identifiable.
2. Elle se présente dans toutes les zones géographiques des USA et au moins dans 27 états.
3. Elle se manifeste par une importante mortalité de butineuses et par des pertes de colonies et peut poser de sérieux problèmes économiques à certains apiculteurs.
4. L'époque des plus fortes mortalités d'abeilles est le printemps en période froide et humide. Les mortalités sont plus ou moins sévères suivant les années.
5. Elle a été remarquée depuis plus de 15 ans, mais les cas les plus importants sont apparus dans les 5 dernières années.
6. La dépopulation pendant les périodes froides et humides aux endroits où l'incidence de la Nosérose est faible, peut être causée soit par les pesticides soit par la maladie de la disparition.
7. Beaucoup de colonies souffrant de la maladie de la disparition se rétablissent durant l'été quand le temps devient chaud et sec et à la faveur de nouvelles miellées. Les rendements en miel en sont quand même affectés.
8. Les apiculteurs les plus fréquemment touchés sont ceux qui font du miel dans les Etats du Nord, mais qui achètent essaims ou reines ou les deux dans le Sud.

LA CEB 95

Avril 1982

Méthode d'essai non officielle mais recommandée



Suite à la promulgation de l'arrêté Interministériel paru au J-O du 20.02.1976 :

" Dispositions relatives à l'application des produits antiparasitaires à usage agricole "

il n'existait aucune codification, fût elle officieuse, de méthodologie des essais de laboratoire, sous cage, ou en plein air. L'action des apiculteurs a conduit les autorités concernées, à élaborer, dans l'urgence en avril 1982 et sous le N° 95 de la Commission des Essais Biologique, " les Méthodes d'Essais destinés à connaître les effets des insecticides sur l'abeille domestique (*Apis Mellifica* L) ". Il est dommage que ce travail n'ait pas été réalisé avec davantage de recul. La " préoccupation Pyréthroides " et l'actualité immédiate de l'époque, y eût été moins prégnante. Quoi qu'il en soit, cette méthode, (aujourd'hui séparée en deux, N° 95 pour les tests de laboratoire, et 129 pour les essais sous tunnel) constitue la référence obligée de toute les " expérimentations abeilles ".

Il est peut-être temps désormais, en collaboration avec les apiculteurs concernés, et en toute transparence, de vérifier s'il n'y a pas lieu de faire évoluer ces textes à la lumière de la progression de nos connaissances.

C'est devant l'incompréhension de nos difficultés par la communauté scientifique, qu'il est apparu nécessaire de lister les anomalies dont nous étions témoins (voir ci dessous). A l'expérience, il convient de préciser que certains des symptômes décrits ne sont pas spécifiques aux intoxications. Il s'agit là d'un gage supplémentaire du sérieux des observations effectuées. Un animal blessé, malade, ou empoisonné, réagit toujours en fonction de son instinct de survie. Ces nouvelles formes d'intoxications ont aiguisé le sens de l'observation des hommes du terrain. Il est dommage que les scientifiques n'y aient pas prêté, jusqu'ici, davantage attention.

Compilation des symptômes

Mars 1983

CETA Aquitaine



Vous trouverez ci-dessous la compilation des symptômes établi par le C.E.T.A AQUITAINE, début 1983.

- ✓Ceux qui ont eu un problème de cheptel et qui ont remarqué d'autres symptômes que ceux décrits ,
- ✓Ceux qui ont un avis à donner, un témoignage à apporter.....
- ✓Ceux qui ont des problèmes

doivent prendre contact par écrit avec la Commission Cheptel

N'hésitez pas à signaler vos pertes et donner vos suggestions, le concours du plus grand nombre est absolument indispensable pour essayer de résoudre ce difficile problème.



ETUDE DES PROBLEMES CHEPTEL

Depuis trois ans sont apparus, sur presque tout le territoire Français, des " problèmes de cheptel " dont la réalité n'est plus niée par personne, mais sur l'origine desquels, à ce jour, l'unanimité est loin d'être faite.

Le but de ce texte, dont le principe a été soumis à l'issue du stage abeilles-insecticides, organisé du 10 au 14/01/1983 par le CETA Alpille -Luberon à AIX en Provence, est de rassembler tous les symptômes remarqués. La corrélation entre ces symptômes n'est pas non plus admise par tous. Cependant, il était utile de les rapporter pour y voir plus clair à l'avenir.



SYMPTOME N° 1 - Mois d'Avril.

Cela se passe le plus souvent à proximité des grandes cultures. La population de la totalité des ruches d'un même rucher diminue dans des proportions plus ou moins considérables :

- parfois, cette baisse amène les abeilles à quitter les hausses entraînant une cristallisation plus rapide du miel de Colza, au point que celui-ci soit difficile, voire impossible à extraire.
- cette diminution peut être beaucoup moins spectaculaire, difficile à déceler.



SYMPTOME N° 2 - Devant la ruche

Une mortalité apparente très faible surgit devant les ruches. Dans des cas précis ou par hasard, des observations journalières ont pu être faites. Il a été établi que cette mortalité apparaît façon soudaine. Pas une seule abeille morte devant les ruches un jour, apparition d'une mortalité faible sur toutes les ruches le lendemain. Cette mortalité se situe dans une fourchette extrême de 10 à 300 ou 400 abeilles/ruche/jour, pour se situer le plus souvent entre 30 et 60. La langue de ces abeilles mortes est dépliée sur toute sa longueur. Cette mortalité ne s'accumule pas de façon significative, aucun cas n'a été signalé d'une mortalité de 1.500 à 2.000 abeilles/ruche, un mois après le début des constatations.



SYMPTOME N° 3

Souvent, on observe les abeilles nerveuses, semblant se battre entre-elles; cette scène se passe la plupart des fois entre une abeille capable de voler et une autre non capable, mais encore vivante.

La scène prend fin généralement lorsque l'abeille la plus vigoureuse s'envole, emportant l'abeille morte ou mourante.



SYMPTOME N° 4

Des abeilles sont dispersées çà et là aux alentours immédiats du rucher. Le phénomène le plus remarqué est la présence d'abeilles accrochées aux brins

d'herbes ou à la végétation à proximité des ruches, le plus souvent sur les 3 mètres devant la planche de vol, mais aussi immédiatement derrière les ruches.

Ces abeilles sont, soit immobiles, soit respirant faiblement. Avec un peu d'habitude, il ne peut pas y avoir de confusion avec des abeilles chargées de nectar qui reprennent leur souffle avant de regagner la ruche, celles-ci ayant une respiration beaucoup plus ample et régulière que celles-là.

Lorsque l'on tente de les pousser du doigt pour les inciter à partir, elles tombent le plus souvent, ou bien elles s'envolent pour se reposer à proximité; il se peut qu'elles parviennent à regagner leur ruche, mais elles peuvent s'éloigner à perte de vue.



SYMPTOME N° 5

Environ 3 semaines à un mois après le début des mortalités, certains ont remarqué la présence en très petit nombre de larves, d'abeilles ou de mâles rejetés devant certaines ruches.

A la même époque, des reines ont été trouvées parfois devant plus d'une ruche sur trois.

Le plus souvent il n'y a pas d'essaimage, cependant il peut apparaître un essaimage qualifié d'intempestif (colonies peu peuplées).

Un fait notable: les supersédures sont très nombreuses (parfois la quasi totalité des colonies) et sur une ruche, il n'est pas rare de trouver à cette époque, 30 à 40 cellules royales.



SYMPTOME N° 6

Lorsqu'on observe des abeilles mourantes, celles-ci agitent convulsivement, puis de plus en plus faiblement, pattes et antennes, les pattes et les antennes s'écartant et se rapprochant en même temps.

Début Mai également, on peut trouver un très petit nombre d'abeilles inachevées. Celles-ci sont plus petites, souvent vivantes d'un gris très clair, presque blanc. Leurs ailes sont atrophiées, déformées, fripées, tronquées ou même enroulées sur elles-mêmes.



SYMPTOME N° 7

Dans les exploitations travaillant depuis des décennies sur abeille noire, on a pu constater de manière irréfutable une "tenue au cadre" différente. Ce phénomène est visible dès la fin du mois d'avril et particulièrement en Mai et Juin.

Il se manifeste de la façon suivante :

Lorsque l'on sort un cadre de la ruche, les abeilles ne couvrent pas le couvain et sont concentrées sur 3 ou 4 cm au bas du cadre.

Lorsque l'on sort 2 ou 3 cadres à la fois (Hoffman), les abeilles ne couvrent pas davantage, mais on peut observer pendant 10 à 15 secondes une masse d'abeilles grouillantes au fond de la ruche qui remonte rapidement entre les cadres restants et le long des parois.

Il va de soi que ce type d'observation est d'autant plus délicat et difficile à établir, que l'hybridation est importante. Chacun sait en effet que la tenue au cadre est plus ou moins différente selon les races d'abeilles.



SYMPTOME N° 8

A la même époque, et parfois sur des miellées régulières, les colonies, bien que très pourvues en provisions, sont très longues à monter en hausses. Il faut que le corps soit pratiquement bloqué avant que les abeilles ne se décident à occuper la hausse.

Dans le même ordre d'idées et sur des exploitations qui réussissaient autrefois à obtenir des récoltes homogènes (pas plus de 100% de différences) sur les ruches d'un même rucher, il est fréquent de trouver aujourd'hui dans un même rucher et pour des ruches ayant fait le même circuit de transhumance, menées de la même façon, sur la miellée d'été des ruches n'étant pas montées en hausse à côté de ruches ayant amassé plus de deux hausses pleines.

Ce type d'observation ne peut être fait que sur des exploitations déjà anciennes et qui n'ont changé ni le circuit de transhumance, ni la race d'abeilles, ni les méthodes de travail.



SYMPTOME N° 9

Dans les régions où l'essaimage se fait surtout en Juin, Juillet, l'absence d'essaims naturels dans les ruchers est absolument remarquable depuis l'apparition de tous ces phénomènes.



SYMPTOME N° 10

Les exploitations produisant du miel de Callune, lorsqu'il a été possible de faire des comparaisons en référence à des ruches dépourvues de tous ces symptômes, ont pu constater sur cette miellée tardive, une quasi- absence de montée en hausse, les colonies se contentant, même en cas de miellée importante, de bloquer le corps.

Une mention particulière sera faite sur les symptômes apparents entre Octobre et début Avril.

Parfois, après de relativement bonnes récoltes en été, particulièrement sur sapin, des ruchers entiers se sont effondrés durant une période allant de la fin septembre à l'entrée de l'hiver, sans que rien jusque là n'ait pu laisser penser à l'apiculteur que quelque chose d'anormal pouvait arriver. Certains ruchers ont ainsi été décimés à 80%.

Dans la même période, on a pu observer des supersédures en pourcentages non négligeables, totalement anormales et en tout cas, pour le mois de novembre, vouées à l'échec.



SYMPTOME N° 11 : Janvier - fin Mars

Dès le mois de janvier parfois, on peut constater une mortalité anormale mais faible devant les ruches.

Une dépopulation, parfois sans aucune mortalité apparente, parfois avec une légère mortalité, mais ne représentant pas le manque d'abeilles, apparaît entre janvier et fin mars.

Le plus spectaculaire: on retrouve des ruches avec des provisions quasi intactes, 50 à 500 abeilles seulement entourant une reine jeune, paraissant très jolie et tout à fait normale, couvrant deux ronds de couvain ridicules parfois pas plus grands que des pièces de 5 francs. Ces ruches sont étonnamment longues à se faire piller.

- Des ruches bourdonneuses en quantité anormale? On a signalé dans certains cas, des taux de 50%, certaines ayant une population pouvant être qualifiée de normale, d'autres ayant été complètement désertées.

- Des ruches complètement vides, probablement orphelines mais qui n'ont certainement pas été bourdonneuses.
- Des colonies encore relativement peuplées avec une reine mais qui ne pond plus, parfois depuis longtemps.
- Des pertes plus importantes sur les essaims de l'année précédente :
 - les ruches ayant fait le sapin
 - les ruches ayant transhumé en montagne
 - les ruches ayant transhumé plusieurs fois en référence
 - aux colonies non divisées
 - ayant fait la lavande
 - n'ayant pas été en altitude
 - peu transhumées ou fixes

Certaines colonies à faible population mais viables ont une surface de couvain importante en tout cas disproportionnée par rapport au volume de la grappe.



SYMPTOME N° 12

Le couvain bien qu'ayant été pondu par des reines jeunes, présente un aspect en "mosaïque" comparable à de la loque américaine sans qu'il n'y ait sur des ruchers entiers, une seule cellule loqueuse.

Parfois les attaques de mycoses sont spectaculaires; le cadre lorsqu'on le secoue, fait un bruit de grelot, plus d'une cellule sur deux pouvant être mycosée. Ces mycoses, lorsque la colonie a survécu disparaissent progressivement au fil des miellées.



SYMPTOME N° 13

Plusieurs apiculteurs ont également remarqué à la même époque une inappétence au sirop de nourrissage.

On voit fondre et disparaître des essaims en quelques jours après leur avoir administré un nourrissage stimulant.

Des couvre-cadres nourrisseurs peuvent rester jusqu'à plusieurs semaines sans que les colonies parviennent à les vider.

Dans les couvre-cadres nourrisseurs ayant un accès libre, les abeilles se noient en quantité importante. Parfois, après avoir vidé sirop et abeilles mortes, on retrouve

quelques jours plus tard dans ces nourrisseurs un nombre plus ou moins important d'abeilles mortes qui n'ont pu se noyer mais qui sont simplement venues mourir là-haut.

Pour ceux qui pratiquent le nourrissage par l'entrée (Boardman) il arrive que, en 8 jours les abeilles n'ont même pas réussi à vider 1/20 d'un bocal de 33 cl.

Sur des ruchers complets, certains collègues ont signalé souvent moins de 20% de colonies ayant vidé leur bocal en 8 jours.

Ce phénomène n'est pas uniquement du à la faiblesse des populations mais répétons le, à l'inappétence au sirop de nourrissage.



SYMPTOME N° 14 - remarqué plus rarement -

Certains collègues ont signalé que les colonies survivantes ont vu leurs bâtisses vieillir et noircir anormalement, parfois même les parois de ruches et les plateaux couvre-cadres.



SYMPTOME N° 15 - figurant des aberrations qui ne sont que des cas isolés -

Des apiculteurs ont signalé à plusieurs reprises des cas de mortalité apparente puis de résurrection, mais le dernier en date mérite d'être relaté :

Au mois de janvier 1983 un collègue, apiculteur professionnel, constate la présence devant une ruche d'abeilles mortes avec la reine. Il reste à l'intérieur un petit paquet d'abeilles vivantes, sans reine. Il prélève les abeilles mortes et les porte dans un laboratoire proche en vue de recherches parasitologiques.

On ne trouve rien de particulier, mais le personnel demande pour le lendemain, un lot d'abeilles vivantes en vue d'analyses complémentaires. Lorsque l'apiculteur revient, toutes les abeilles non analysées et restée dans le laboratoire s'étaient " réveillées " et se promenaient un peu partout dans la pièce. (Ces abeilles sont restées au moins 20 h endormies dans le laboratoire avant de se réveiller).

D'autres aberrations ont été signalées au niveau du couvain, notamment des cellules de reines avec la nymphe positionnée à l'envers, c'est-à-dire la tête au fond de la cellule.



EN CONCLUSION

Ce texte constitue une compilation aussi exhaustive que possible de tous les symptômes décrits ces 3 dernières années

Effets de la Perméthrine sur le comportement d'abeilles *Apis mellifera* individuellement identifiées

Par Robert L. Cox et William T. Wildon

laboratoire de Recherches Agricoles du Ministère de l'Agriculture (UDSA)

Université de Laramie - Wyoming - 82071 - USA

Section d'étude des maladies des abeilles liées à l'usage des pesticides.

Publication de 1984 . Traduction apiculteur professionnel.



Des abeilles butineuses individuellement identifiées ont été traitées avec une dose sub létale de perméthrine dans un nourrisseur et leur comportement a été ensuite observé dans une ruche d'étude (transparente NDT).

Les abeilles adultes ont exprimé, après le traitement, une augmentation significative du temps d'auto nettoyage, des danses tremblantes, des plissements abdominaux, des tournoiements et des nettoyages de l'abdomen en se frottant l'une à l'autre les pattes de derrière. Par contre, les abeilles non traitées ont consacré un temps plus important à la marche, à la visite dans les cellules, au nourrissage et ont effectué plus de vols de butinage.

LEPPIK (1953) nomma ces comportements modifiés " danses d'alarme ", qui s'exprimaient après chaque mise en contact d'une abeille avec une substance nocive. La danse frétilante, utilisée par une butineuse pour communiquer l'emplacement d'une source de nectar, d'eau ou de pollen, était totalement perturbée après l'ingestion d'une dose sub létale de parathion (Schricker et Stephen - 1970). De retour d'un point d'alimentation, les abeilles exposées au parathion effectuaient une danse frétilante indiquant un angle erroné par rapport au soleil et à la source de nourriture. C'est essentiellement les glandes thoraciques qui étaient affectées par le parathion, induisant une erreur dans la transposition par les abeilles de l'angle entre le vol horizontal et la position verticale sur les rayons. Une dose sub létale de parathion affectait également l'horloge interne et le rythme des danses des butineuses. (Stephen & Shricker - 1970).

La présente étude avait pour objectif de déterminer si, et de quelle façon, une dose sublétale de la pyréthriinoïde de synthèse, appelée perméthrine, affecte le comportement de l'abeille au cours des vols de butinage et à l'intérieur de la ruche.



MOYENS ET METHODES

Les travaux ont été menés en Septembre - Octobre et Novembre 1981, dans une serre (dimensions : 6,7 m x 9,7 m, à structure tubulaire recouverte d'une double épaisseur de polyéthylène transparent). Les températures extrêmes étaient fixées à 15,4°C (minimum) et 32°C (maximum) ; la lumière naturelle était complétée, avant le lever du soleil, par un éclairage fluorescent, afin de maintenir une photopériode 12 / 12.

Depuis une ruche d'observation transparente, les abeilles ont été habituées à se rendre à un nourrisseur situé à 5 m de la ruche. Le nourrisseur était alimenté par une solution à 50% de saccharose et une éponge humide pour la boisson. Les abeilles étaient identifiées sur nourrisseur par une petite étiquette de couleur, de 2,5 mm de diamètre, collée sur la partie dorsale du thorax (Chr. Graze KG, 7056 Weinsstadt-Endersbach bei Stuttgart, W. Germany). Chaque abeille était ensuite relâchée à l'intérieur de la ruche d'observation, afin d'avoir la certitude de son retour à la colonie. Durant une heure environ, chaque abeille relâchée essayait d'arracher avec ses pattes l'étiquette colorée. Il est arrivé que des étiquettes tombent ou soient arrachées avant que la colle n'ait eu le temps de sécher. Elles ont donc été positionnées au moins 24 heures avant les observations.

La ruche d'observation utilisée était une évolution du type conçu par Gary et Lorenzen (1976). Elle permet de garder un contact visuel avec une abeille marquée, en tous points de la ruche. Elle contient un cadre inférieur avec du couvain, du pollen et du miel et un cadre supérieur avec du pollen et du miel en réserve, ainsi que des cellules vides. La population était suffisamment importante pour recouvrir totalement le cadre inférieur et partiellement le cadre supérieur à la nuit tombée (environ 5000 abeilles). Le sommet de la ruche comportait 2 trous de 3,2 cm de diamètre, permettant une alimentation en sirop, eau ou gâteau de pollen, selon les besoins. La ruche d'observation a été mise en place dans la serre fin Août et les abeilles entretenues par le nourrissage au pollen et sirop de sucre avant et pendant la durée de l'expérience.

De la perméthrine, titrant 95%, a été dissoute dans de l'acétone. Les solutions étaient préparées avec X µg de matière active par micro litre de solution de perméthrine. Une goutte de 1 l de solution de perméthrine ou d'acétone pure était ensuite appliquée sur la surface dorsale de l'abdomen, à l'aide d'une micro pipette graduée de 5 l.

Une série de tests de toxicité ont été conduits, afin de déterminer la plus haute dose sub létale de perméthrine administrable à une abeille butineuse. Des abeilles traitées ont été placées dans de petites cages (9 x 9 x 4,8 cm), semblables à celles utilisées par Kulinčević et Rothenbühler (1973), sauf pour les parois latérales et le

fond, où un plexiglas transparent nettoyable de 1,3 cm d'épaisseur remplaçait le bois. Chacune de ces cages, contenant 10 abeilles, était maintenue à une température constante de 35°C. Les mesures de mortalité avaient lieu 24 heures après le traitement. Le premier dosage choisi a été 0,009 (g par abeille. Il s'agissait de la plus forte dose amenant à un taux de mortalité comparable à celui du témoin (acétone pure).

Expérience 1 :

40 butineuses identifiées ont été traitées sur le plateau de nourrissage avec 0,009 (g de perméthrine et 37 avec de l'acétone pure. Les abeilles étaient traitées par 20 (17 dans un groupe).

L'expérimentation a donc duré 4 jours.

Tableau 1 - Description des comportements dans la ruche d'observation

COMPORTEMENT	DESCRIPTION
ENTRETIEN	
Auto - toilettage	En frottant la tête ou l'abdomen (essentiellement sur les côtés) avec les pattes
En mouvement	Entre deux autres attitudes, avec pivotement du corps en changeant de direction
Marche	Promenade sur le substrat entre 1 et 5 cm/sec
Insertion du corps	Le corps rentre dans une cellule par la partie antérieure, tête seule, ou tête et thorax, ou le corps tout entier
Ventilation	Les ailes sont actionnées dans un mouvement de vol, mais les torses restent au contact du substrat
ECHANGE	
Echange de nourriture	Transfert à une autre abeille de nourriture liquide en exsudant une gouttelette entre
Réception de nourriture	L'abeille qui reçoit plonge son appareil buccal dans la gouttelette et aspire le liquide offert par ..
Toucher d'antennes	Toucher par une antenne, de l'antenne d'une autre abeille par un mouvement constant des deux ...
Examen	Toucher, par une antenne, de la surface du corps d'une autre abeille, notamment l'abdomen
Etre examiné	Durant l'examen, l'abeille examinée tourne sa tête et l'extrémité de son abdomen dans la direction opposée à l'examineur
Danse circulaire	Course en cercles étroits sur le rayon ou sur le plancher de la ruche, avec de fréquents changements de direction, tantôt dans le sens des

	aiguilles d'une montre, tantôt, en sens contraire.
COMPORTEMENT ANORMAL (Abeilles empoisonnées)	
Danse tremblante	Vibration de l'ensemble du corps de l'abeille dans différents plans (antérieur -postérieur - latéral - diagonal)
Frottement de pattes	Frottement, l'une contre l'autre, des pattes méta thoraciques sous l'abdomen, celui-ci étant soulevé. Rotation * Rotation ou pivotement de tout le corps au cours de la marche sur les 6 pattes
Plissements abdominaux	L'extrémité postérieure de l'abdomen est plissée ou repliée sous le ventre, l'abdomen étant soit relevé, soit abaissé..., l'extrémité touchant le substrat

L'observateur enregistrait si les abeilles marquées revenaient une fois, deux fois, ou pas du tout à la ruche. Il enregistrait également la présence ou l'absence des abeilles dans la ruche le soir, à la fin du butinage (6 h (?) après traitement) et le lendemain matin (18 Heures après le traitement)...

Expérience 2 :

Dix butineuses ont été traitées avec une dose de 0,001µg de perméthrine. Les abeilles étaient ensuite observées dans la ruche pendant une durée de 30 minutes et comparées à des abeilles traitées avec de l'acétone pure.

Les observations comportementales étaient enregistrées en utilisant le système Ohtani (1974) modifié. (Tableau 1).

Les activités des abeilles traitées et des abeilles témoins étaient enregistrées sur une cassette audio. Le nombre de fois où l'abeille quittait la ruche durant la période d'observation était également enregistrée.

Tableau 2 – Comportement en vol des abeilles ayant reçu un traitement de 0,009µg de perméthrine (Expérience 1)

SERIE	TRAITEMENT	EN NOMBRE D'ABEILLES					
		Retour au moins 2 fois à la ruche	Présente dans la ruche le soir	Présente dans la ruche le lendemain matin			
1	Témoin	10	10	*	10	10	
	Perméthrine	10	0	*	0	0	
2	Témoin	10	10	10	10	6	
	Perméthrine	10	5	0	0	0	

3	Témoin	17	17	17	17	17
	Perméthrine	20	12	1	0	0
TOTAL	Témoin	37	37 (100%)	27 (100%)	37 (100%)	33 (89%)
	Perméthrine	40	17 (43%)	1 (4%)	0	0

* Chiffres non enregistrés lors de la série 1.

Tableau 3 - Pourcentage moyen de chacun des comportements observés dans la ruche expérimentale pour les abeilles traitées avec la perméthrine et pour les abeilles témoin

COMPORTEMENT	TEMOIN	TRAITEES PERMETHRINE
<u>ENTRETIEN</u>		
Auto - toilette	31,6	57,9 *
En mouvement	2,8	1,1
Marche	42,5	9,7 *
Insertion du corps	3,5	0,6 *
Ventilation	0,3	0,1
<u>ECHANGE</u>		
Echange de nourriture	12,8	4,1 *
Réception de nourriture	0,2	0,3
Toucher d'antennes	5,1	1,5 *
Examen	0,3	0,0
Etre examiné	1,1	0,0
Danse circulaire	0,3	0,0
<u>COMPORTEMENT ANORMAL</u>		9,7 *
Danse tremblante °	0,0	30,9
Rotation	0,0	30,2 *
Plissement abdominaux °	0,0	67,3 *
Auto toilette de l'abdomen par frottements des pattes	0,0	61,8 *
<u>DIVERS</u>		
Non observé	0,9	4,1
Pourcentage du temps d'observation par période de 30 minutes	51,2	45,7
Nombre moyen de départs de la ruche (durant ce temps)	4,3	1,5 *

* La différence est significative au niveau de 5% par le test t.

° Ce comportement peut se produire simultanément à d'autres.



RESULTATS ET DISCUSSIONS

Expérience 1

Un résumé du comportement des abeilles traitées à 0,009 μ g de perméthrine est donné dans le tableau 2.

Toutes les abeilles du groupe témoin sont retournées au moins deux fois à la ruche après le traitement et, toutes étaient présentes dans la ruche le soir venu.

43% des abeilles traitées à la perméthrine sont revenues une fois à la ruche et seulement 4% sont revenues 2 fois après le traitement. Aucune d'entre elles n'était présente le soir venu, ni le lendemain matin, alors qu'à ce moment, 89% des abeilles témoin étaient encore présentes.

La plupart des butineuses traitées à 0,009 μ g de perméthrine ont été désorientées au point de ne même pas pouvoir retrouver la ruche. Il semble que celles qui ont pu revenir une fois à la ruche, l'ont fait avant de ressentir les graves attaques de l'empoisonnement à la perméthrine.

Après avoir trouvé mortes sur le sol, sur les bords de la serre, certaines abeilles traitées, nous avons mené une série de tests de mortalité, afin de déterminer quel pourcentage des abeilles traitées mourraient à l'extérieur de la ruche expérimentale.

Lorsqu'après le traitement, elles étaient maintenues en cages, dans des conditions de température semblables à celles du nid à couvain, elles ne mourraient pas, mais si l'on plaçait les cages près des parois de bordure de la serre, alors elles mourraient en grande quantité. Aucune mortalité n'était par ailleurs observée sur les abeilles traitées à l'acétone, ou traitées à la perméthrine à 0,009 μ g mais conservées ensuite à 35° C. Quoiqu'il en soit, le pourcentage moyen de mortalité des abeilles maintenues à une température allant dans la serre de 15 à 32° C était de 90%.

La conclusion fut que les abeilles traitées ne retournaient pas à la ruche car elles étaient exposées à de basses températures et mourraient à cause de la toxicité accrue de la perméthrine à ces températures. Blum et Kearns (1956) démontrèrent que la toxicité de nombreuses pyréthinoïdes augmentait à basses températures. Au champ, cela pourrait vouloir dire que de grandes quantités d'abeilles exposées à la perméthrine meurent à l'extérieur des ruches, là-même où un apiculteur ou un scientifique n'observe pas cette mortalité, même s'il est équipé d'un compteur d'abeilles mortes à rentrée de la ruche.

Expérience 2

Les butineuses, traitées à une dose plus faible de perméthrine (0,001 μ g) survivent,

mais en extériorisant un comportement anormal dans la ruche expérimentale. Une abeille traitée cesse le butinage 5 à 10 minutes après le traitement et commence à se nettoyer l'abdomen en se frottant les pattes arrière l'une contre l'autre. Ensuite, l'abdomen se contracte en forme de croissant et de nombreuses abeilles traitées tournent sur elles-mêmes en effectuant une danse tremblante.

Les pourcentages moyens du temps où les abeilles extériorisent différents schémas de comportement (décrits Tableau 1) est présenté dans le Tableau 3. Les abeilles traitées à la perméthrine passent un pourcentage significativement plus élevé de leur temps à faire de l'auto toilette, des danses tremblantes, des plissements de l'abdomen, des rotations et un nettoyage de l'abdomen en frottant les pattes de derrière l'une contre l'autre. Les abeilles témoin passent, elles, un pourcentage significativement plus élevé de leur temps à marcher, pénétrer dans les alvéoles, nourrir et toucher les antennes. Elles ont, par ailleurs, effectué un plus grand nombre de vols de butinage par abeille que les abeilles traitées.

Une abeille appartenant au groupe témoin, une fois de retour à la ruche, s'arrête un court instant, nettoie sa tête, ses mandibules, son abdomen, frotte ses pattes l'une contre l'autre et touche les antennes d'une ou plusieurs autres abeilles adultes en marchant sur le plateau. Elle se comporte ainsi jusqu'à ce qu'une ouvrière tende sa "trompe" et ingère la goutte de saccharose régurgité. Après cela, elle se nettoie encore, particulièrement l'appareil mandibulaire et marche au milieu des autres abeilles. La butineuse peut également marcher sur le plancher de la ruche, se diriger vers l'entrée et s'envoler. Si une butineuse a rapidement transmis sa solution sucrée à une autre abeille, elle retourne alors également rapidement au nourrisseur (dans les 1 à 2 minutes) et effectue de nombreux voyages, restant très peu de temps dans la ruche. Les abeilles traitées à la perméthrine passent moins de temps à ces activités normales et plus de temps, au contraire, dans un comportement atypique.

Il est très probable que l'interruption du comportement normal et la perte du sens de l'orientation observée dans les deux expériences ont été le résultat des effets de la perméthrine sur le système nerveux central. Cary (1980) a établi que la blatte *Periplaneta americana* L., traitée à l'alléthrine (une pyréthrianoïde de synthèse) sur l'abdomen montrait une perte du sens de l'orientation et une dislocation du système nerveux central à toutes les concentrations ayant été testées. Grammon (1979), après avoir traité *Periplaneta americana* à l'alléthrine, observait quant à lui, une hyperactivité, un comportement désordonné, suivi d'une prostration et finalement d'une paralysie complète. Des enregistrements effectués sur des individus traités montrèrent que les terminaisons nerveuses étaient tout d'abord hyper excitées, induisant probablement l'hyperactivité observée. Quand la blatte perdait ensuite sa coordination et sombrait dans la prostration, le système nerveux central devenait également hyper excité.

Dans le cas où de nombreuses butineuses d'une colonie seraient exposées à une dose sub létale de perméthrine, les quantités de nectar, pollen et eau rapportées et

stockées dans la ruche diminueraient. Une grande quantité de butineuses empoisonnées par la perméthrine, suivant des schémas de comportement anormaux, ce serait la ponte des oeufs, l'élevage du couvain et la régulation thermique qui seraient très probablement perturbés. Nous ne connaissons pas la durée de ces perturbations qu'entraîne l'exposition à une dose sub létale.

Il est reconnu depuis de nombreuses années que des populations d'abeilles *Apis mellifera* peuvent être accidentellement touchées, voire détruites, par des insecticides utilisés pour traiter des insectes parasites. La plupart des travaux réalisés n'ont pris en compte que l'effet sur la mortalité des abeilles d'un traitement insecticide. Cependant, quelques publications ont étudié les conséquences d'un traitement insecticide sur le comportement des abeilles, notamment pour ce qui concerne l'alimentation et les danses. Le DDT, par exemple, ainsi qu'un certain nombre de pyréthinoïdes, entraîne une diminution de l'activité de butinage dans les champs traités (Musgrave -1951 ...).

Cluich et al. (1973), note un comportement irritable et facilement excitable, ainsi qu'une désorganisation des schémas de vol, après une exposition au méthonyl (produit commercial : LANNATE NDT). Par contre, Waller et al (1979) établit que des colonies engagées n'avaient aucune réticence à s'alimenter d'une solution sucrée contenant du diméthoate (insecticide organophosphoré systémique - NDT) pour des concentrations inférieures à 5 ppm., mais que les prélèvements de sirop diminuaient pour des concentrations comprises entre 5 ppm. et 25 ppm. Egalement, les vols et les quantités de pollen collectées étaient réellement augmentées après la pulvérisation d'un fongicide, le Dithane, sur une forêt de pins (Buckner et al. 1976).

Des abeilles ayant été exposées à différents insecticides effectuent des danses atypiques dans la ruche, sur les rayons (danses en spirales ou en zigzag) (Schnecker 1949).

Atkins, E.L., D. Kellum and A.W. Atkins, 197 integrated pest management strategies for protection honey bees from pesticides. *Am. Bee J.* 118: 542, 5 547, 548

Blum, M.S., and C.W. Kearns. 1956. Temperature and the action of the pyrethrum on the American cockroach. *J. Econ. Entomol.* 49: 862-865

Buckner, C.H., B. B. McLeod, T.A. Gochnauer, and R. Lough. 1976. Effects of the fungicide, methane® M-45 on colonies of honey bees, *Apis mellifera* L. *Manit. Entomol.* 10: 46-48

Cary, L.R. 1980. Some behavioral and enzymal parameters of adult male *Periplaneta americana* Master's thesis. University of Wisconsin, Madison

Clinch, P.G., T. Palmer-Jones, and I.W. Forst 1973. Effect on honey bees of dicrotophos a methomyl applied as sprays to white clover. N.Z. Exp. Agric. 1: 97-99

Gary, N. E., and K. Lorenzen. 1976. How to construct and maintain an observation bee hive. Ur Calif. (Davis Campus) Leaflet. 2853

Gammon, D.W., 1979. An analysis of the temperature -dependence of the toxicity of allethrin to the cockroach, pp. 97-117. In T. Narahashi [ed.], Neurotoxicology of insecticides and pheromones. Plenum Press, New York.

Kulincevic, J. M., and W. C. Rothenbuhler. 197 Laboratory and field measurements of hoarding behaviour in the honey bee. J. Apic. Res. 12:179-1

Leppik, E. E., 1951. Bees' struggle. Agric. Chem. 48-49 1953. The language of bees and its practical application. Part II. Am. Bee J. 93: 470-471

Musgrave, A.J., 1951. Some results of an investigation on the repellent effects of DDT to the honey bees pp. 89-90. In Proc. Entomol. Soc. Ont.

Ohtani, T., 1974. Behavior repertoire of adult honey bees within observation hives. J. Fac. Sci. Hiroshima Univ. Ser. VI Zool. 19: 706-721

Schick, W., 1953. Effect of poisonous substances on bee dances. Zeitschrift Vergleichende Physiol. 105-128 [Apic. Abstr. 7: 125.]

Schneider, F., 1949. Poisoning of bees by dinitro sol and bee dances as a reaction to the distribution of the poison in the colony. Mitt. Schweiz. Entomol. Ges. 22: 292-308 [Apic. Abstr. 3: 103.]

Schricker, B., 1974a. The effect of sublethal doses of parathion on the time-sense of honeybees. Apidologie 5(4): 385-398

1974b. The effect of sublethal doses of parathion on the indication of distance in the honeybee. I 5(2): 149-175

Schricker, B., and W. P. Stephen., 1970. The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behavior. I. Oral administration and the communication dance. J. Apic. Res. 9: 141-153

Stephen, W. P., and B. Schricker., 1970. The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behavior. II. Site of parathion activity and signal integration J. Apic. Res. 9: 155-164

Waller, G. D. , R. J. Barker, and J. H. Martin. 19 Effects of dimethoate on honey bee foraging. *O mosphere* 7: 461-463

Travaux du CNEVA-LPPRA sur la Deltaméthrine

Juin 1985

Conclusion extraite de la publication intégrale sur le Bulletin Laboratoire vétérinaire N° 18



Les expériences terrain, nous le constatons, sont difficiles à conduire. Cela tient au fait qu'elles mettent en jeu un insecte social dont il est difficile de maîtriser l'environnement. De nombreux paramètres dans les ruchers témoin et traité (biotopes, aire de butinage, force des colonies, sélection des reines...) peuvent difficilement être codifiés correctement. De plus, le contrôle des épandages dans tout le secteur expérimental s'avère difficile, les agriculteurs étant surtout attachés au bon rendement de leur récolte.

Cependant, des enseignements importants en découlent :

- ✓ Au point de vue clinique, nous avons constaté des symptômes identiques entre les intoxications expérimentales au laboratoire et sur le terrain, particulièrement par mise en évidence du " knock-down ". Celui-ci sans avoir pour conséquence la mort de l'insecte peut expliquer le non retour à la ruche par perte d'orientation ou par KD permanent si des variations de températures interviennent. Ainsi l'absence de cadavres d'abeilles devant la ruche n'exclut pas la possibilité d'une intoxication. Plusieurs fois, les abeilles " mortes " prélevées pour les analyses reprenaient vie arrivées au laboratoire (cf.: intoxications expérimentales) .
- ✓ La perturbation du cycle biologique de la colonie est évidente (disproportion couvain-abeilles, adynamie) mais irrégulière entre les différentes ruches. L'examen d'autres colonies situées sur des sites non traités montre un développement harmonieux.
- ✓ La recherche des résidus a mis en évidence la présence de deltaméthrine dans les cadavres d'abeilles à des doses souvent supérieures à la DL50 ainsi que dans les pelotes de pollen.
- ✓ La présence de deltaméthrine sur les végétaux et dans les pelotes de pollen durant toute la période de floraison démontre la rémanence du produit. Cela est en accord avec les caractéristiques du produit annoncées par le fabricant mais diffère des résultats des expérimentations de terrain conduites jusqu'à présent où la deltaméthrine ne se retrouve sur les végétaux que durant huit jours (22).
- ✓ La présence de deltaméthrine au rucher témoin n'a d'explication que par une pollution extérieure. L'intensité des traitements et la dispersion par le vent en est peut être la cause mais reste une hypothèse.
- ✓ La présence d'un germe nouveau, donné comme peu pathogène. Cependant, l'intoxication jouant comme cause favorisante, l'apparition d'un effet de synergie n'est pas à exclure.
- ✓ La différence de résultats entre les laboratoires nécessite la mise en œuvre d'une harmonisation.



CONCLUSION

" Ce travail a essayé d'apporter des informations rigoureuses sur la toxicité de la

Deltaméthrine vis-à-vis de l'abeille. Comme l'ensemble des publications qui en font état, nous concluons à une haute toxicité dans les conditions de laboratoire. La DL50 trouvée à 27°C s'accorde avec celle de BOS. La toxicité sur butineuse est augmentée lorsque l'on travaille à 17°C, ce qui est d'une grande importance et est trop facilement oublié dans le cas de la Deltaméthrine.

Le " knock-down " n'est pas seulement une manifestation passagère de l'intoxication. Il peut dans certaines conditions de température devenir irréversible et être la cause de la dépopulation des colonies: la Deltaméthrine se fixe chez l'abeille et la toxicité apparaît ensuite à basse température.

Sachant :

- que la température interne de l'abeille dépend en grande partie de la température ambiante externe,
- que la toxicité de la Deltaméthrine apparaît souvent lors des miellées de colza au cours d'une saison printanière sujette à de nombreux aléas climatiques et particulièrement lorsque ceux-ci s'exacerbent,
- que sur le terrain on retrouve les symptômes cliniques obtenus lors des intoxications expérimentales au laboratoire,
- que les analyses toxicologiques mettent en évidence des résidus de Deltaméthrine dans les cadavres d'abeilles et les pelotes de pollen, mais avec une grande variabilité (intra et inter laboratoires) due aux dégradations ce qui empêche de faire référence à la DL50 pour donner une importance de la mortalité,
- que le pouvoir répulsif de la Deltaméthrine, gage de non toxicité vis-à-vis de l'abeille, ne dure que trois jours et que le pouvoir attractif des fleurs, variable selon les conditions atmosphériques, joue en sens contraire,

nous pouvons conclure à la possibilité d'intoxication des colonies d'abeilles par la Deltaméthrine dans certaines conditions de terrain défavorables. Cet insecticide peut donc être ponctuellement responsable de problèmes de cheptel et être la cause d'intoxications chroniques d'intensité variable différentes de celles connues jusqu'alors.

La décision de traitement ainsi que le dosage sont laissés à l'initiative de l'agriculteur. Les enquêtes menées chez différents exploitants ont montré un manque de rigueur dans les applications de produits phytosanitaires. Les surdosages sont très fréquents ainsi que les mélanges de produits. Les traitements sont souvent effectués par temps de vent. On remarque très bien la dispersion du nuage de nébulisation loin des machines agricoles sur les autres cultures. Enfin. " traiter avant floraison " est une expression dont l'interprétation varie énormément particulièrement en ce qui concerne le début de floraison ou la demi floraison. On

trouve là des facteurs aggravants très importants.

L'année 1984 a vu l'autorisation de traitement au Décis en pleine floraison. Parallèlement, elle a vu une augmentation des cas d'intoxication où le Décis a été retrouvé (cf. : tableau chap. 7).

Enfin, les germes nouveaux mis en évidence peuvent interférer et jouer comme facteur aggravant supplémentaire dans l'apparition de l'intoxication ou inversement.

On peut lire dans la méthode n° 95 de la commission des essais biologiques (19) à propos des essais de toxicité en laboratoire et plein champ: "Quelles que soient leur précision et la qualité des résultats qu'ils fournissent, les essais de toxicité n'apportent qu'une probabilité élevée du danger ou non danger. Il est impossible de leur faire prendre en compte la totalité des facteurs susceptibles de diminuer ou d'accroître le danger couru. Il ne faut jamais perdre de vue que tous les insecticides sont toxiques pour les abeilles et que la notion du danger restera toujours assortie d'une marge de sécurité plus ou moins grande. Le rôle des essais est de déterminer autant que faire se peut l'importance de cette marge de sécurité".

Dans le cas de la Deltaméthrine cette marge de sécurité a été, à notre avis, surestimée.

Pesticides et analyses toxicologiques

1985

Note d'information du CNEVA



ESSAI INTERLABORATOIRES - RESUME

Intoxications individuelles de 12000 abeilles par DL50 de 3 pesticides: Parathion méthyl, association Parathion éthyl-Fenvalérate, Fenvalérate.
Envoi des échantillons à 5 Laboratoires; 4 réponses.

Résultats des analyses :

- ✓ Parathion méthyl : 3,6 à 11 % de la dose, selon le Laboratoire, sont récupérés par l'analyse.
- ✓ Parathion éthyl-Fenvalérate: 9 à 16% de la dose, selon le Laboratoire.
- ✓ Fenvalérate: 15 à 39% de la dose, selon le Laboratoire Métabolisation rapide ou dégradation rapide puisque sur le mélange direct abeilles mortes-pesticides la récupération est de 90% min.



NOTE D'INFORMATION

Un essai inter laboratoire portant sur l'analyse des pesticides chez l'abeille a été décidé le 24 avril 1985 lors d'une réunion qui s'est tenue à l'INRA de MONTFAVET. Cette réunion faisait suite à deux réunions organisées par la commission cheptel du SPMF au cours desquelles a été évoqué l'affaiblissement du cheptel apiaire.

Cet essai a été défini comme suit: Préparation des échantillons d'abeilles intoxiquées par le LNPPRA de NICE, en choisissant 2 à 4 pesticides sur une liste établie lors de la réunion du 24 avril.

Laboratoires participants à l'essai :

- ✓ Laboratoires INRA : phytopharmacie de VERSAILLES (Directeur M.HASCOET) et de MONTFAVET (Directeur M. DE CORMIS) .
- ✓ Laboratoire de la Répression des Fraudes -MASSY (M. DECLERCQ).
- ✓ Laboratoire Central d'Hygiène Alimentaire (Directeur M. GLEDEL).
- ✓ Laboratoire SICAGRO ORLEANS (M. MIELLET) .

1. Préparation des échantillons d'abeilles intoxiquées

- ✓ Recherche de la DL50 pour les 3 pesticides retenus.
- ✓ Intoxications individuelles des abeilles aux DL50 trouvées, soit 12 000 abeilles.
- ✓ Préparation des échantillons: les abeilles intoxiquées, mortes ont été mises immédiatement au congélateur au fur et à mesure des intoxications. Le 1er lot d'intoxications a été réuni en 1

mois, le 3ème lot en 15 jours (le 2ème lot était constitué d'abeilles non intoxiquées).

L'ensemble de chaque lot a été homogénéisé et l'échantillonnage pour chaque laboratoire a été réalisé en prélevant abeille par abeille en différents points du lot.

2. Résultats

✓ Parathion méthyl (Lot n° 1)

La dose trouvée varie de 0,085 à 0,260 mg / kg d'abeilles sèches.

La dose administrée rapportée au kg d'abeilles sèches varie selon le laboratoire de 2,28 mg à 2,47mg.

Soit une récupération :

maximale de 11 %

minimale de 3,6 %

moyenne de 6,8 %

✓ Association Parathion Ethyl -Fenvalérate (Lot n° 3)

Pour les mêmes unités mg / kg d'abeilles sèches :

- Parathion Ethyl :
Doses trouvées de 0,42 à 0,85
Doses administrées de 4,65 à 5,4
Récupération :
maximale 16 %
minimale 9 %
moyenne 12 %
- Fenvalérate :
Nous ne disposons que de 3 résultats seulement :
5,93 mg / kg trouvés pour 18 mg appliqués
2,34 mg / kg trouvés pour 16 mg appliqués
6,83 mg / kg trouvés pour 17.5 mg appliqués
soit 32,9 % - 14,6 % - 39 % de récupération.

3. Commentaires

Malgré un nombre d'analyses peu important (8 pour le Parathion Méthyl, 13 pour le Parathion Ethyl et 4 pour le Fenvalérate), on peut remarquer que le taux de récupération est bas ou très bas quelque soit le laboratoire. Plusieurs questions se posent :

1- Performance des analyses: par divers essais précédents, il a été prouvé que quand on mélange un pesticide à un lot d'abeilles (sans qu'il y ait réelle intoxication), les analyses débouchent sur un taux de récupération supérieur à 90 %. Il semble donc que la technique d'analyse elle même soit bonne.

2- Amplification possible des erreurs au cours des manipulations :

- ✓ au cours de l'intoxication des abeilles: les erreurs possibles sont par excès (évaporation de

l'acétone servant de support au pesticide)
✓ au cours de l'analyse, l'erreur possible par défaut, si tout va dans le même sens, se situe autour de :

- 0,0036 mg / kg pour le parathion méthyl.
- 0,0086 mg / kg pour le parathion éthyl.
- 0,028 mg / kg pour le Fenvalérate.

donc négligeable par rapport aux doses trouvées.

Il semble donc qu'on ne puisse mettre en cause l'analyse elle-même.

Mais ces résultats remettent en question la validité de l'utilisation de ces techniques pour diagnostiquer une intoxication surtout si l'on ne veut porter un diagnostic d'intoxication que quand la dose retrouvée avoisine la DL50.

Ces taux de récupération si bas, en outre, amènent à formuler quelques hypothèses relatives à la métabolisation et / ou à la fixation plus ou moins irréversible des pesticides chez l'abeille.

Enfin, au cours de la putréfaction des abeilles, il y a dégradation rapide des produits: des échantillons laissés 7 jours à la température du laboratoire ne contiennent plus de quantités décelables de pesticides. Or ces conditions sont fréquentes sur le terrain.

4. Conclusion

Cet essai inter laboratoire qui conforte de nombreuses observations de terrain et les résultats des expérimentations du LNPPRA sur la Deltaméthrine, permet d'arriver aux conclusions suivantes :

✓ En ce qui concerne les résultats des analyses de laboratoire :

1°/ Quand dans un échantillon d'abeilles l'analyse permet de déceler une dose de pesticide égale ou supérieure à la DL50, on peut conclure sans contestation à une intoxication.

2°/ Quand dans un échantillon d'abeilles, l'analyse permet de déceler une quantité de pesticide allant de traces à une dose inférieure mais proche de la DL50, on peut conclure à une présomption d'intoxication.

L'analyse dans ce cas là, ne permet pas de conclure à elle seule. Il est alors impératif pour porter un diagnostic, que ces résultats soient complétés sur le terrain par une observation du comportement des ruches ou des ruchers et une information sur les possibles cultures et traitements à l'origine des phénomènes. Il est bien évident que ce diagnostic devra être porté par une personne reconnue compétente, dans la mesure où il y a sinistre et si ce sinistre fait l'objet d'une demande de compensation.

3°/ Quand dans un échantillon d'abeilles on ne retrouve rien, le laboratoire ne peut en aucun cas donner un avis sur une possible intoxication.

Il peut effectivement ne pas y avoir eu intoxication; il peut y avoir présence d'un produit sortant de la liste habituelle et non signalé par le demandeur auquel cas il ne sera pas recherché; il peut y avoir dégradation du produit entre le moment où les abeilles meurent et le moment où l'échantillon arrive au laboratoire.

✓En ce qui concerne l'échantillonnage :

Bien que l'analyse ne permette de trancher que dans un nombre relativement restreint de cas, il est quand même important que les meilleures conditions soient respectées lors du prélèvement et de l'envoi des échantillons et que des informations les plus complètes possibles soient données au laboratoire qui doit procéder à l'analyse :

Prélever une quantité importante d'abeilles (de l'ordre de 500) sur 10 à 20% des ruches du rucher.

Emballage aéré (carton, papier) en excluant le plastique.

Envoi par colis urgent, sous couvert du froid.

Pour avoir une valeur officielle, ce prélèvement devrait être effectué de préférence par un délégué du S.P.V. ou un assistant apicole agréé par la D.S.V. Des aménagements dans ce sens sont à l'étude.

Prélever également des fragments de végétaux incriminés, indiquer les produits possibles, les cultures suspectées et éventuellement les dates d'épandages, les conditions climatiques qui ont précédées les mortalités.

✓Pour l'avenir

Un important travail de recherches reste à faire pour définir l'action des différentes classes de pesticides sur l'abeille, voire de re préciser pour certains leur persistance sur les végétaux.

Par ailleurs, il est nécessaire de définir l'intoxication chronique et les conditions d'apparition de ses symptômes. Dans ce cadre, le LNPPRA met en place un réseau de ruchers observatoires dans les principales zones de monocultures pour suivre et analyser l'évolution des colonies, ceci pour une meilleure prévention des effets toxiques des pesticides, dans la mesure où il est possible, bien sûr, d'éviter un emploi inadéquat ou abusif de ces produits.

Compte rendu de la réunion "Méthodologie Abeilles"

Paris - 29 Janvier 1986

Ministère de l'Agriculture / Service Protection des Végétaux / DSV
/ INRA / DGCCRF



Assistaient à la réunion

Direction de la qualité : M. JOLIVET : Directeur

Services Vétérinaires de la Santé et de la Protection animale : M. MOUREY

Service de la Protection des Végétaux : MM. DOUSSAU, Adjoint au Chef de Service - CARRETTE, Chef du Bureau Homologation - WIMMER, D.D.A.F. du CHER

Laboratoires des Services Vétérinaires : M. MEUNIER, Inspecteur Général

Laboratoire Central d'Hygiène Alimentaire : Mme VENANT

Laboratoire National de Pathologie des Petits Ruminants et des Abeilles (NICE) :
Mme FLECHE - MM. COLIN - FAUCON - FLAMINI

I.N.R.A. :

- M. DESCOINS, Chef du Département de Phytopharmacie
- Laboratoire de Phytopharmacie (VERSAILLES) : M. HASCOET, Directeur
- Station de Phytopharmacie (AVIGNON) : MM. DE CORMIS, Directeur - BELZUNCES
- Station d'Amélioration des Plantes Fourragères et Laboratoires Associés (LUSIGNAN) : M. TASEI

Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité : M. DECLERCQ, Laboratoire Central (Massy)



OBJET DE LA REUNION

De nombreux accidents de ruchers sont constatés chaque année par les apiculteurs, mettant en cause les traitements phytosanitaires pratiqués par les agriculteurs.

Une controverse relative à la fiabilité des analyses existe au sein de la profession apicole ; elle se traduit par :

- des refus de faire pratiquer des analyses, l'expression et l'interprétation des résultats étant jugées douteuses.
- une crainte vis à vis des nouvelles molécules (Pyréthroïde) accusées d'être la cause de dépérissement de ruchers. Cette crainte pouvant, à l'extrême, aboutir jusqu'au déplacement des ruchers des zones de cultures intensives vers les zones de moindre traitement.

Les représentants des Services Centraux (Direction de la Qualité), ainsi que des laboratoires, (Service Vétérinaire, INRA, Répression des Fraudes et Contrôle de la Qualité), tous concernés par les problèmes "abeilles" ont décidé de faire le point sur la dernière campagne et d'établir des propositions destinées à améliorer l'efficacité de leurs interventions.



BILAN ANNEE 1985

Analyses pratiquées par les laboratoires

Le tableau suivant présente les résultats des analyses pratiquées par les laboratoires de NICE (LNPPRA) et PARIS (LCHA).

<i>RESULTAT</i>	<i>NOMBRE DE CAS</i>	<i>OBSERVATIONS</i>
<i>Négatif</i>	<i>50</i>	<i>Où les produits recherchés n'ont pas été décelés.</i>
<i>Parathion méthyl</i>	<i>27</i>	
<i>Lindane</i>	<i>22</i>	
<i>Deltaméthrine</i>	<i>15</i>	
<i>Diméthoate</i>	<i>5</i>	
<i>Parathion éthyl</i>	<i>4</i>	
<i>Soufre</i>	<i>4</i>	
<i>Captafol</i>	<i>2</i>	
<i>Captane</i>	<i>2</i>	
<i>Fenclorphos</i>	<i>2</i>	
<i>Bromophos</i>	<i>1</i>	
<i>Carbaryl</i>	<i>1</i>	

<i>Endosulfan</i>	<i>1</i>	
<i>Fénitrothion</i>		
<i>Méthidation</i>	<i>1</i>	
<i>2, 4, 5 T</i>	<i>1</i>	
<i>Total</i>	<i>123</i>	<i>(dont 73 positifs)</i>

Plusieurs remarques ont été formulées, à savoir :

- Bien qu'important, le nombre d'analyses pratiquées (123) n'est pas statistiquement représentatif.
- Dans 1 cas sur 2, la nature de la culture suspectée est inconnue de l'analyste et nécessiterait une recherche toute direction, techniquement possible, mais d'un coût beaucoup trop élevé.
- le conditionnement des échantillons et les délais d'acheminement font qu'ils arrivent très souvent en début de putréfaction.



Informations recueillies par le Service de la Protection des Végétaux. (SPV)

En fait, le S.P.V. a été informé uniquement des cas d'intoxication à caractère nouveau ou entachés d'une certaine "publicité médiatique" . Quatre cultures sont concernées, ce sont :

- Colza

341 ruches ont été touchées dans les régions Centre, Ile de France, Lorraine et Bourgogne Franche-Comté.

Les traitements appliqués pendant la dernière décade du mois de mai sur le complexe Sclérotinia, Cylindrosporiose, Charançon des siliques, sont mis en cause.

A chaque fois, il s'agissait d'un mélange comportant un insecticide, le DECIS (m.a. Deltméthrine) associé à un fongicide, le SPORTAK pf (m.a. Prochloraz + Carbendazime) ou plus rarement le KIDAN (m.a. Iprodione).

La nocivité de ce mélange appliqué aux heures chaudes de la journée, par moyen terrestre ou aérien, ne fait aucun doute pour les enquêteurs.

Signalons toutefois que rares ont été les analyses pratiquées.

- Lavande

Dans la région du plateau de Valensole (Alpes de Haute Provence) des mortalités, qualifiées d'importantes, étaient observées sur les ruchers installés les 9 et 10 juillet.

Plusieurs analyses ont été pratiquées par 3 laboratoires, 1 laboratoire a mis en évidence des traces de Lindane.

Il n'a pas été possible de conclure valablement, surtout lorsqu'on examine les traitements couramment pratiqués en 1985 sur cette culture :

CURATER (m.a. Carbofuran) en mars sur Cécidomyie.

ULTRACIDE 20 (m.a. Methidation) en avril sur Cochenille.

- Verger de pommiers

Un cas signalé dans la région de NIMES. L'arboriculteur a appliqué un insecticide ORTHENE 50 (m.a. acéphate) 5 à 8 jours avant le début de la floraison, respectant ainsi les recommandations d'emploi du produit.

Il n'a pas été pratiqué d'analyse, mais il semble établi que cette spécialité commerciale se montre agressive en cas de conditions météorologiques, post-traitement, froides.

- Vigne

Dans 5 communes du Haut-Rhin, des dégâts étaient notés du 17 au 19 juin. Plusieurs analyses ont été pratiquées sur abeilles mortes, mettant en évidence du Parathion méthyl et du soufre.



Essai Inter laboratoire

· Le 24 avril 1985 était décidé l'exécution d'un essai inter laboratoire portant sur la recherche de pesticides sur abeilles intoxiquées.

· Le laboratoire (LNPPRA Nice) était chargé de la coordination, de la préparation des échantillons et de leur acheminement vers les laboratoires suivants :

- INRA : phytopharmacie Versailles et Montfavet
- Répression des fraudes: Massy
- Hygiène alimentaire: LCHA Paris
- Sicagro : Orléans.

· Les échantillons étaient constitués par des abeilles intoxiquées individuellement à la DL50. 3 lots étaient ainsi constitués :

- lot n° 1 : Parathion méthyl
- lot n° 2 : Abeilles non intoxiquées
- lot no 3 : Association Parathion Ethyl + Fenvalerate

· Résultats (Unité mg / kg d'abeilles sèches)

Les résultats de quatre laboratoires étaient connus (LCHA - INRA Versailles - INRA Montfavet - LNPPRA).

- Lot n° 1 : Parathion méthyl

La dose trouvée varie de 0,085 mg à 0,260 mg. Un laboratoire ne l'a pas détecté.

Les analyses montrent qu'on retrouve seulement 6,8 à 11 % des doses administrées.

- Lot n° 3 : Parathion Ethyl - Fenvalerate

Pour le Parathion éthyl le dosage varie de 0,42 à 0,85 mg, soit une " récupération " de 12 à 15 %.

Pour le Fenvalérate (3 dosages seulement) ce sont 2,34 mg à 6,83 mg qui sont trouvés, soit une " récupération " de 14,6 à 39 %.



Sur le plan qualitatif, les résultats sont satisfaisants.

Sur le plan quantitatif, on ne retrouve que 6,8 à 39 % des doses appliquées pour intoxiquer les abeilles.

Or, il est prouvé que l'on récupère 90% lorsque l'analyse porte sur des abeilles préalablement tuées auxquelles on a par la suite ajouté le produit (surcharge) .

Dans ces conditions, on est amené à formuler des hypothèses relatives à la métabolisation et / ou à la fixation plus ou moins irréversible des pesticides chez l'abeille.

Il n'est plus question de mettre en cause les techniques analytiques.

Par contre, le problème se situe au niveau du diagnostic d'intoxication, notamment lorsque les doses retrouvées avoisinent la DL 50 ordinairement admise.



Plusieurs propositions ont été formulées, à savoir :

- Informer les laboratoires des pratiques phytosanitaires, en leur fournissant les bulletins d'Avertissements édités par les services régionaux de la protection des végétaux.
- Guider le laboratoire dans sa recherche analytique :
Chaque échantillon doit être accompagné d'une fiche de renseignement, synthèse d'une enquête de terrain, précisant entre autres informations, la nature du (ou des) produit(s) supposé(s) incriminé(s), les dates de traitements et d'envoi des échantillons, le milieu environnant.
L'enquête de terrain devrait permettre ainsi d'axer l'analyse sur un nombre limité de produits.
Les enquêteurs pourraient être les agents du Service de la protection des végétaux, assistés des spécialistes sanitaires et assistants sanitaires apicoles faisant partie des services vétérinaires départementaux. La faisabilité de la mise en place d'un tel dispositif sera précisée ultérieurement.
- Améliorer la qualité de l'échantillon :
Prélever au minimum 500 abeilles (50 gr) fraîchement mortes.
Éviter les emballages hermétiques favorisant la putréfaction des abeilles.
Expédier l'échantillon en début de semaine.
- Interprétation de l'analyse
Le résultat qualitatif est fiable.
Le dosage peut être interprété dans les limites suivantes :
Dosage \geq DL 50 connue. La relation de cause à effet est établie, permettant de confirmer le diagnostic d'intoxication.
Dosage $<$ DL 50 connue. Le diagnostic d'intoxication ne peut pas être formel, seule subsiste une présomption.
- Mener des travaux de recherche sur :
La connaissance, pour chaque produit, de la courbe de dégradation chez l'abeille. Travaux nécessaires pour interpréter les dosages .
L'étude des lieux de fixation et de dégradation des produits dans l'abeille permettant la mise en évidence d'indicateurs d'intoxication nécessaire au diagnostic.
L'INRA a affirmé son intention de conduire des études fondamentales dans ce sens. Des premiers résultats pourraient être obtenus dès la fin de l'année 1986 pour une dizaine de produits.
- Examiner la nécessité et la possibilité de faire figurer dans le dossier toxicologique établi par les firmes phytosanitaires lors de demande d'homologation, les éléments d'information concernant la cinétique de dégradation des matières actives et leur métabolisation.

- Informer les organisations professionnelles et syndicales des conditions d'interprétation des résultats d'analyses (Presse, contacts avec les représentants, réunions...).

Une telle réunion devrait à nouveau être tenue en janvier 1987.

Extrait de l'enquête éco-pathologique sur 17 ruchers répartis dans 10 départements

CNEVA - 1987/1988

Publication intégrale : " La santé de l'Abeille " N°111, Mai/juin 1989

Note : 1 gramme = 1000 milligramme (mg), 1 milligramme = 1000 microgrammes (µg), 1mg/Kg = 1 ppb.



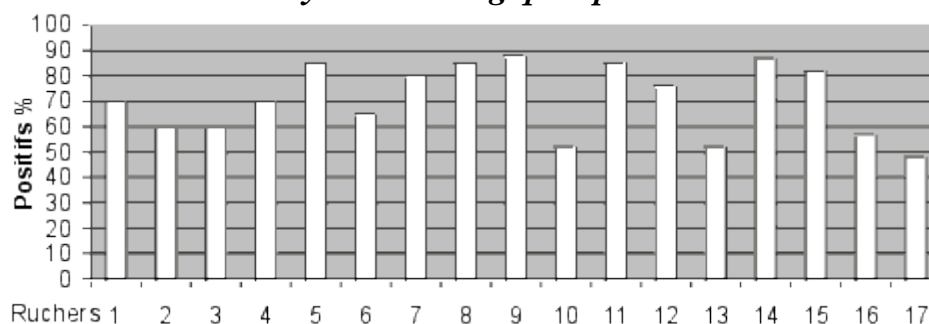
Analyses de pollen. Analyses toxicologiques positives en fonction de l'emplacement des ruchers. L'étude porte sur l'ensemble des analyses toxicologiques.

Les plus forts pourcentages d'analyses positives (75% et plus) se retrouvent dans les zones de grande activité agricole ou d'activités pointues (maraîchage, serres) : R5, R14, R15 (Maine et Loire), R7, R9 (Gers), R8 (Sarthe), R11 (Morbihan), R12 (Alpes Maritimes, Ain).

Dans les autres zones, même si l'activité agricole est moins importante et les épandages supposés moins fréquents, le pourcentage d'analyses positives reste élevé. A un moment donné de sa vie, l'abeille est toujours en contact avec des fleurs traitées R1 (Doubs), R4 (Var), R6 (Alpes de Haute Provence).

Aucune région n'est indemne, même si elle semble isolée. C'est le cas du rucher de la Loire (R2) ou la végétation est composée principalement de sapins, de céréales et de quelques pommes de terre, et du rucher du Doubs (R1) après transhumances (voir tableau)

Analyses toxicologiques positives



1	Doubs	10	Hérault
2	Loire	11	Morbihan
3	Hérault	12	Alpes-Maritimes -Ain
4	Var	13	Hérault
5	Maine et Loire	14	Maine et Loire
6	Alpes de Haute Provence	15	Maine et Loire
7	Gers	16	Var
8	Sarthe	17	Alpes Maritimes/Alpes de Haute Provence
9	Gers		

INTRODUCTION DE RESIDUS DANS LA COLONIE PAR LE POLLEN

Enquête menée au CNEVA en 1987-88

Entre la 16° et la 36° semaine dans un rucher de la Loire ont été introduits :

LINDANE	0.075 mg
DELTAMETHRINE	19 mg
CYPERMETHRINE	6.7 mg
FENVALERATE	0.7 mg
FOLPEL	65 mg
CAPTANE	15.6 mg

INTRODUCTION DE RESIDUS DANS LA COLONIE PAR LE POLLEN

Enquête menée au CNEVA en 1987-88

Entre la 16° et la 40° semaine dans un rucher du Gers ont été introduits :

		DL50 Ab
LINDANE	1.2 Micro grammes	0.50 mg / Ab
DELTAMETHRINE	0.1 Milligrammes	0.07 mg / Ab

CYPERMETHRINE	6.1 Milligrammes	0.16 mg / Ab
FENVALERATE	0.2 Milligrammes	0.41 mg / Ab
FOLPEL	1.9 Milligrammes	
CAPTANE	41.8 Milligrammes	

Tableau de comparaison de quelques DL 50

1989

CNEVA



RECAPITULATIF DES DL50 OBTENUES POUR LES DIFFERENTS PRODUITS

PRODUITS	CYPERMETRHINE « Cymbush »	FENITROTHION « Folithion »	CYPERMETRINE ET MALADIE NOIRE
DL 50 24h (µg/ab)	0,18 (0,03)	0,16 (0,05)	0,06 (0,025)
DL 50 48h (µg/ab)	0,085 (0,02)	0,09 (0,025)	
DL 50 72h (µg/ab)	0,035 (0,02)	0,06 (0,03)	

() Écart type

La DL 50 est une dose de toxicité aiguë et non une dose d'innocuité. Il était intéressant de vérifier que, lorsqu'on passe de 24 à 48 et 72 heures, les doses nécessaires pour faire mourir 50% des abeilles testées diminuent considérablement. (NDR).

Note sur l'évaluation des effets des pesticides sur l'abeille

JUIN 1991

INRA



L'utilisation du DDT dans la lutte contre les insectes nuisibles à l'homme marque le début d'une gestion nouvelle de l'agrosystème et de ses relations avec l'écosystème. L'apiculture, qui est à l'interface de ses deux systèmes, est un témoin de leurs interrelations. Ainsi, elle a été un révélateur précoce des effets adverses des insecticides sur l'entomofaune.

Par exemple, les premiers épandages d'insecticides organophosphorés en pleine floraison ont occasionné des mortalités brutales et massives dans les ruchers. Elles ont aussi révélé l'importance des insectes pollinisateurs et entraîné l'idée de protection de l'abeille dans l'agrosystème.

Pour réaliser une protection efficace des abeilles, on a pensé qu'il suffisait d'éviter les destructions rapides de ruchers en recherchant des insecticides dépourvus de toxicité suraiguë ou aiguë. Actuellement, la vraie question est de savoir si la suppression de la toxicité aiguë n'entraîne pas d'une part l'augmentation du taux de produits polluants dans les colonies, que ces produits soient des insecticides, des fongicides ou des herbicides, et d'autre part l'apparition d'effets toxiques chroniques sur la colonie d'abeilles... La question devient plus pertinente, quand la réglementation concernant l'épandage de produits phytosanitaires, considère à priori que les insecticides et acaricides sont les seuls pesticides potentiellement toxiques pour l'entomofaune.

Quels sont donc les critères officiels pour juger de la toxicité d'une formulation insecticide sur l'abeille?

Il s'agit d'abord de la seule dose létale 50% obtenue à une température invariable avec des abeilles d'âge précis et avec des procédés de contamination expérimentale très particuliers. Est-ce vraiment le reflet d'une colonie en activité et des multiples contraintes qu'elle reçoit de l'environnement ou de la conduite de l'homme? Ce n'est pas non plus l'essai de toxicité en tunnel qui reflètera les nombreuses situations de terrain. Au plan scientifique, cet essai en tunnel est très contestable car il n'est pratiqué qu'une seule fois à cause de la lourdeur du protocole et du prix de revient. De plus, ce test repose sur la comparaison avec un produit témoin de l'absence de toxicité: la Phosalone, qui provoque des mortalités de butineuses à température élevée. Il est évident qu'un toxicologue ne peut répondre objectivement sur l'existence d'une toxicité grossière fondée sur le dénombrement d'abeilles mortes et encore moins sur l'apparition de phénomènes atypiques dans des conditions de terrain.

Cet aspect réglementaire illustre bien la largeur du fossé qui existe entre la conception d'un test unique de laboratoire ou en conditions semi contrôlées pouvant rendre compte à lui seul de la toxicité d'une formulation et la conception classique en toxicologie humaine ou animale, reposant sur la notion de risque. En effet, l'animal est exposé à de multiples situations au cours de sa vie et certaines d'entre elles sont favorables à l'apparition de phénomènes toxiques plus ou moins aigus. Dans ces situations particulières, il y a risque pour la bonne santé de l'animal sans parler obligatoirement d'issue fatale. La transcription de la notion de bonne santé au niveau de la colonie d'abeilles pourrait être le bon déroulement des activités de la colonie et pas seulement du butinage. L'idée de risque implique aussi de reconnaître des signes précoces de perturbation de la bonne santé (sur des insectes vivants).

L'antinomie entre ces deux conceptions arrive à son point de rupture. Il faut choisir entre une position confortable, qui consiste à compter des abeilles mortes au laboratoire ou dans un tunnel et à conclure en fonction d'un seuil mathématique dépourvu de signification biologique et une conception scientifique moderne du risque toxicologique pour des insectes sociaux et vivants. Aujourd'hui, les apiculteurs ne se sont pas décidés et dans ces conditions, l'étude d'une nouvelle conception de la toxicologie aboutira rapidement à une impasse, car une position tiède des apiculteurs s'ajoutera au désintérêt de l'industrie phytosanitaire pour une avancée scientifique dont elle voit encore mal les bénéfices. Dans la mesure où l'apiculture appartient à l'écosystème, elle ne devrait pas se priver d'un modèle écotoxicologique très favorable pour elle.

Vingt années de retard en toxicologie de l'abeille ne semblent pas insurmontables, si les concepts et les méthodes modernes sont transposés à l'abeille. Mais où trouver le supplément de crédits d'équipement et de personnel scientifique et technique pour former une "masse critique" capable de combler un retard scientifique et de consacrer du temps aux problèmes urgents d'affaiblissement de ruchers ?

Brève synthèse des travaux des 10 dernières années

Mars 1992

CNEVA



Nombreux sont ceux qui s'interrogent depuis plusieurs années sur le rôle des pesticides dans des affaiblissements de colonies qui paraissent de plus en plus fréquents. Ils se traduisent par une diminution de population, une adynamie et nous constatons une mortalité de colonies régulièrement supérieure à 10% alors qu'il y a une vingtaine d'années la mortalité habituelle se situait aux alentours de 2%.

L'impact des pesticides sur la faune sauvage et notamment sur les insectes ne fait aucun doute et de nombreux travaux expérimentaux réalisés par plusieurs équipes dans le monde entier ont permis d'imputer aux pesticides des réductions de population voire des disparitions par mortalité directe ou par des effets moins immédiatement visibles sur la reproduction, la longévité, le dynamisme ou le capital génétique. L'abeille fait partie de cette faune et il est tout à fait légitime de s'interroger sur l'influence des pesticides sur sa survie et son activité.

Depuis 10 ans le CNEVA-LPPRA a mené un certain nombre de travaux afin de préciser si les pesticides pouvaient intervenir dans les dépopulations constatées et comment ils intervenaient. Ainsi, successivement ou parallèlement :

- Nous nous sommes interrogés sur la valeur des analyses qui sont mises en œuvre pour déceler une intoxication sur le terrain : un essai inter laboratoire, (1), a permis de conclure qu'on ne pouvait pas, même dans les meilleures conditions, déceler à l'analyse les doses auxquelles peuvent être soumises les abeilles; au mieux, l'analyse permet de récupérer 10% à 30% de la dose initiale. Ceci prouve que la référence à la DL50 pour conclure à une intoxication après une analyse chimique est totalement inadéquate.
- Nous sommes intervenus fréquemment sur le terrain dans des cas de mortalités importantes ou de dépopulations graves afin d'en cerner les causes. Nous avons pu constater les symptômes d'affaiblissement sans pouvoir les rapporter à une cause infectieuse ou climatique.
- Nous avons mené des essais expérimentaux en condition de terrain: Des essais ont été conduits avec la Deltaméthrine ou au champ afin d'observer précisément l'effet d'épandages dans les conditions normales d'emploi. S'il n'a pas été possible de conclure péremptoirement sur des effets néfastes (puisque en fin d'essai nous avons retrouvé de la Deltaméthrine aussi bien sur le champ témoin non traité que sur le champ traité) cette expérimentation a permis de constater les symptômes d'affaiblissement décrits par les apiculteurs et que nous avons observés lors de visites sur le terrain

effectuées à leurs demandes. Elle a permis de montrer également que dans les conditions normales d'emploi l'abeille pouvait être en contact avec le produit et le ramener à la ruche par le pollen et ce non seulement à des doses supérieures à la DL50 mais aussi, bien après la période des 3 jours où le phénomène de " répulsivité " est censé éviter l'intoxication des abeilles. Elle a permis de montrer par des essais complémentaires en laboratoire que, à 17° (au lieu de 25° recommandé) la DL50 est divisée par 5 or en période d'épandages (printemps pour le colza) on est plus près de 17 que de 25°. Enfin cet essai prouve que le produit peut se retrouver sur les plantes à des périodes et en des lieux suffisamment éloignés de l'épandage pour remettre en question les données admises en la matière.

- Nous avons mené une enquête écopathologique (2) portant sur une année, 10 départements, 17 ruchers. Grâce à des prélèvements hebdomadaires, cette enquête a permis la mise en évidence de résidus de pesticides dans tous les ruchers et pendant toute la période de végétation, une pollution particulièrement importante des pollens ramenés à la ruche avec souvent plusieurs produits dans un même échantillon et ce même dans des zones où les épandages sont peu fréquents. Ces résultats remettent donc aussi en question les données admises sur la persistance et la diffusion des pesticides. Ils nous interrogent également sur les conséquences que peuvent avoir les quantités non négligeables de produits qui sont introduits dans la colonie grâce au pollen. Notons que parmi ces produits figurent en bonne place pour la quantité et la fréquence les fongicides et les herbicides qui ne sont pas tous dénués de toxicité.
- Nous menons des essais de toxicité aiguë et subaiguë afin d'évaluer la pertinence des références actuelles (DL50) pour juger des risques encourus par l'abeille lors d'épandages de pesticides. Ce que nous pouvons dire au vu de nos expériences c'est que: la DL50 situe très approximativement le produit sur une échelle de toxicité immédiate et dans des conditions très différentes du terrain. Elle varie avec l'âge des abeilles, selon que l'on observe la mortalité après 1, 2, 3, ou 20 jours. Les essais qui sont menés sous cage ou au champ quand le produit s'avère toxique au laboratoire, ne permettent pas, le plus souvent, de conclure sans ambiguïté.

Aucun de ces essais n'évalue l'impact des pesticides sur la colonie elle même or c'est l'individu réel à considérer dans le cas de l'abeille. Il faut juger des dysfonctionnements qui peuvent se produire dans la colonie et compromettre sur un temps plus ou moins long sa pérennité .

En annexe quelques textes et références sur les résultats de nos investigations.

(1) Voir le compte rendu § 6

(2) Voir extraits § 8

Vue d'ensemble des connaissances en toxicologie de l'abeille

Mars 1992

INRA



Pour situer la toxicologie de l'abeille, il faut revenir à l'arrêté du 4 février 1976 qui spécifiait que "sont présumés dangereux pour les abeilles tous les insecticides, à l'exception de ceux qui portent sur leur emballage la mention: "non dangereux pour les abeilles" dont a été assortie leur autorisation de vente". Cet arrêté a rendu, en quelque sorte, officielle la protection de l'abeille en tant qu'auxiliaire de l'agriculture et outil de travail de l'apiculture. Cependant, la notion d'innocuité pour l'abeille est une notion tout à fait relative puisque les produits considérés sont des insecticides et, par voie de conséquence, dangereux pour les abeilles. De plus, cet arrêté faisait appel à la mention "non dangereux pour les abeilles" qui constitue une phrase de risque négative. Un progrès net en matière de protection de l'abeille allait être enregistré avec la parution de l'arrêté du 5 Juillet 1985. Cet arrêté précise que les insecticides et acaricides sont interdits sur toutes les cultures et peuplements forestiers visités par les abeilles et autres insectes pollinisateurs durant la période de pleine floraison et pendant la période de production de miellat consécutif aux attaques de pucerons. Par dérogation seuls sont utilisés pendant ces périodes les insecticides et les acaricides dont l'autorisation de vente porte la mention: "emploi autorisé durant la floraison ou au cours des périodes d'exsudation de miellat consécutif aux attaques de pucerons". Tout ce qui n'est pas autorisé est donc interdit et considéré comme dangereux pour les abeilles. En outre, les produits insecticides et acaricides reconnus dangereux pour les abeilles doivent porter la mention "Dangereux pour les abeilles et autres pollinisateurs". Il est clair que cet arrêté représente un réel progrès dans la protection de l'abeille. Il est seulement à regretter que cet arrêté ne soit pas étendu aux fongicides et aux herbicides avec lesquels l'abeille est souvent en contact et qui représentent respectivement 38,8% et 36,7% des ventes de produits phytosanitaires au niveau français (chiffres U.I.P.P de 1990).

La place qu'occupe l'abeille dans l'environnement peut être illustrée par un aspect économique et un aspect écologique. D'une part, l'abeille est économiquement importante puisqu'elle est le support de l'apiculture mais aussi de l'agriculture en apportant un accroissement quantitatif et qualitatif des récoltes. D'autre part, l'industrie phytosanitaire est intéressée par la mise au point de molécules peu toxiques pour les abeilles, ce qui permet de ne pas imposer de limitation à l'utilisation des insecticides et acaricides pendant la période de pleine floraison. Du point de vue écologique, l'abeille est un très bon indicateur de la santé de l'environnement. C'est un insecte social dont le comportement est complexe et qui est fréquemment en contact avec les pesticides.

Au cours de son activité d'ouvrière, l'abeille peut subir une contamination primaire par pulvérisation directe du produit agrochimique. Elle est aussi l'objet de contaminations secondaires par contact avec les parties florales traitées, par la nourriture (pollen nectar) contaminée ou alors par un vecteur de toxique qui est peu connu, du moins dans le cas de l'abeille, l'eau. En allant s'abreuver à des points d'eau contaminée, l'abeille peut ainsi être en contact avec des pesticides qui ne sont jamais utilisés dans les zones de culture qu'elle fréquente habituellement comme c'est le cas avec l'aldicarb (sulfoxyde) qui inhibe l'activité de butinage. Les échanges trophallactiques et le broissage des abeilles jouent également un rôle très important dans la dissémination du toxique au sein de la colonie.

Cela est particulièrement vrai avec des molécules comme les organophosphates avec lesquelles un traitement de 200 ouvrières suffit à entraîner la mort de 3500 à 6000 individus pour une colonie de 10.000 abeilles. Il est à noter que, contrairement aux organophosphates, les carbamates ou les organochlorés, les intoxications par les pyréthrinoïdes sont caractérisées par des mortalités non apparentes à proximité des ruches. Il est même pratiquement impossible de retrouver des insectes dans les trappes à abeilles mortes lors d'une intoxication par ces molécules. Cette observation est essentiellement à la base du rejet, par le groupe de travail "abeille" de la commission des toxiques, des épreuves de toxicologie de l'abeille en plein champ. Une contamination retardée pourra aussi se manifester après accumulation dans la cire ou alors, d'une manière plus aiguë, au démarrage printanier par contamination des réserves de nourriture (miel et pollen). Dans le cas d'une contamination de la cire, non seulement les abeilles adultes mais aussi le couvain ont une longévité altérée.

L'estimation des risques toxicologiques représente un facteur très important en toxicologie de l'abeille. Mais ce qui nous intéresse dans le cas présent ce sont bien moins les épreuves toxicologiques que les facteurs pouvant affecter la toxicité des produits agrochimiques. La toxicité aiguë d'un produit peut être assez facilement mise en évidence avec des travaux appropriés. Il n'en est pas de même de la toxicité retardée, chronique ou due à des associations de pesticides. Dans une étude réalisée par Johansen et collaborateurs (1983), il est possible de voir que l'effet choc d'un produit varie grandement avec le mode de traitement. Dans le cas du carbaryl, le traitement en ultra-bas volume augmente l'effet choc d'un facteur 36 pour une dose de matière active deux fois moindre. Réciproquement, pour un cas de figure identique, le traitement en ultra-bas volume du malathion diminue l'effet choc d'un facteur 3. Au sein d'une même famille, l'effet choc varie aussi grandement d'une molécule à l'autre. L'association de deux produits toxiques pour les abeilles n'augmente pas nécessairement l'effet choc d'un produit, comme cela a été démontré pour le toxaphène associé ou non avec le DDT. Les associations peuvent donc produire des effets nuls, des synergies, des sommations mais aussi des antagonismes. Il est possible de voir que le mode d'administration du toxique est important. Les fortes doses n'entraînent pas nécessairement des mortalités plus

élevées et le temps nécessaire pour observer une mortalité donnée est très variable pour une même molécule.

Les résultats que nous venons de citer ont une très grande importance pour l'évaluation de la toxicité des produits agrochimiques sur les abeilles. En France, les épreuves d'estimation de la toxicité des produits phytosanitaires sont définies dans deux méthodes: la méthode 95 de la Commission des Essais Biologiques, pour les études de laboratoire, et la méthode 129 pour les essais sous tunnel. Dans le cas de la dose létale 50% (DL50), c'est à dire la dose nécessaire pour tuer 50% d'une population, plusieurs paramètres contribuent à son hétérogénéité. Pour une même matière active la DL50 varie fréquemment d'un facteur 10 et quelques fois d'un facteur 100 ou 1000. Pour une même famille de pesticides, elle dépend du temps de latence de la molécule. A titre d'exemple, 48 heures après une contamination expérimentale (temps généralement utilisé pour déterminer la DL 50) la mortalité chez les abeilles traitées avec une dose de 7,5 g/ha de deltaméthrine et inférieure à celle des abeilles traitées avec une dose de 30 g/ha. Les conditions trop standardisées de sa détermination aboutissent souvent à une toxicité erronée. Les grandes variations de la DL50 chez l'abeille pourraient être mises à profit pour travailler non plus en termes de toxicité mais en termes de risques.

Les expériences sous tunnel sont-elles plus sensibles? Dans leur principe, il est possible d'estimer la toxicité d'un produit vis-à-vis des abeilles. Seulement, ces expériences souffrent de problèmes de reproductibilité: elles sont lourdes de mise en oeuvre, très chères et soumises aux aléas climatiques qui peuvent compromettre toute une saison d'expérimentation. L'hétérogénéité du matériel biologique de tunnel à tunnel renforce encore la disparité des résultats obtenus. Il est à noter que les résultats des expériences obtenues avec des colonies ayant des reines issues d'une même mère inséminée artificiellement ont présenté également une grande hétérogénéité. Dans les expériences en tunnel, la référence non toxique, la phosalone en l'occurrence, induit des erreurs d'interprétation qui ne sont pas toujours aisées à mettre en évidence. La toxicité de la phosalone augmente avec la température alors que pour les pyréthriinoïdes, molécules faisant l'objet de la majorité des dossiers d'homologation "abeille", c'est le phénomène inverse qui se produit. Ainsi selon la température à laquelle l'essai a lieu, un même produit peut être plus toxique ou moins toxique que la phosalone.

Aux effets toxiques aigus s'ajoutent des phénomènes de synergie entre certains pesticides. Les études que nous avons réalisées montrent que deux pesticides neurotoxiques comme un carbamate et un pyréthriinoïde agissent en synergie non seulement en provoquant une toxicité plus élevée mais aussi au niveau de la cible biochimique du carbamate qui est différente de celle du pyréthriinoïde. De même, une synergie de toxicité se produit entre des insecticides pyréthriinoïdes et des fongicides à triazole ou à imidazole. Le fait le plus important dans les phénomènes de synergie observés avec les molécules que nous venons de citer, c'est qu'ils se produisent avec des doses sub-létales. En d'autres mots, deux produits qui

n'entraînent pas de mortalité, lorsqu'ils sont utilisés séparément, peuvent avoir une forte toxicité lorsqu'ils sont utilisés en association. Ces phénomènes de synergie au niveau sub-létal soulèvent des problèmes analytiques importants. Les doses de produits mises en jeu pour produire des synergies au niveau sub-létal sont voisines ou inférieures à la limite de détection des méthodes analytiques fréquemment employées pour déterminer les résidus de pesticides chez l'abeille, et cela dans le cas d'un rendement de récupération du toxique de 100% et dans l'éventualité où la dégradation du pesticide n'aurait pas lieu. Dans les conditions biologiques normales, la probabilité de détecter les toxiques ayant provoqué une mortalité est très faible si ce n'est nulle.

Les doses sub-létales de pesticides peuvent donc produire des phénomènes toxiques aigus. Cependant la notion de toxicité n'implique pas nécessairement celle de létalité.

Des phénomènes biologiques au niveau sub-létal peuvent entraîner des perturbations graves dans les différentes activités de l'abeille. Les carbamates et les pyréthriinoïdes provoquent un découplage des muscles de vol droits et gauches de l'abeille. Cette altération de la fonction de vol empêche l'abeille de retourner à la ruche et la rend inapte à l'activité de butinage. Les organophosphates empêchent les abeilles éclaireuses de communiquer l'emplacement de la source de nourriture aux autres ouvrières et perturbent donc le recrutement nécessaire à une activité de butinage intensive. D'autres travaux ont montré que les carbamates empêchent les insectes d'exécuter un vol à contre vent. Dans ce cas précis, il n'y a pas de découplage des muscles de vol mais l'insecte est incapable d'effectuer le programme qui lui permet de voler à contre vent. Les pyréthriinoïdes affectent grandement les capacités d'apprentissage et de mémorisation essentielle à la vie de la colonie. Cela a été démontré chez le rat et chez l'abeille. Ils diminuent également les réserves lipidiques et glucidiques de l'abeille. Ainsi, un découplage des muscles de vol, une altération dans le programme de vol à contre vent, la baisse des réserves énergétiques et une perturbation du sens de l'orientation peuvent empêcher les abeilles de retourner à la ruche après une contamination qui n'aurait pas d'effet létal direct. Il est intéressant de noter que des doses de carbamates et d'organophosphates qui n'induisent pas de mortalité chez l'abeille adulte peuvent se révéler létales pour le couvain.

A l'heure actuelle, un manque de données expérimentales se fait sentir sur l'effet des régulateurs de croissance, les anti hormones juvéniles ou les insecticides larvicides qui peuvent s'accumuler dans la cire ou les réserves puis contaminer la ponte de la reine à son redémarrage printanier. Le taux d'hormone juvénile III chez l'abeille est important dans la différenciation des castes au sein de la colonie et dans l'activité de butinage qui pourraient être altérées par ces agents. On ne connaît pas non plus le rôle des pesticides dans la sensibilité de l'abeille aux agents pathogènes.

Une bibliographie non exhaustive mais très représentative de la toxicologie de

l'abeille est jointe à ce document. Toutes les données expérimentales décrites proviennent de ces articles.



REFERENCES

Abdallah E.A.M., Eldefrawi M.E., Eldefrawi A. T. (1991) Pharmacologic characterization of muscarinic receptors of insect brain. Arch. Insect Biochem. Physiol. 17, 107-118.

Adams M.E., Miller T.A. (1980) Neural and behavioral correlates of pyrethroid and DDT -type poisoning in the house fly, *Musca domestica* L. Pestic. Biochem. Physiol. 13, 137-147.

Atkins E.L., Kellum D., Atkins K. W. (1981) Reducing pesticide hazards to honey bees : mortality prediction techniques and integrated management strategies. University of California, Division of Agricultural Sciences. Leaflet 2883.

Banerjee U., Mandal S., Choudhury D.K. (1984) Quantification of acetylcholinesterase, acid and alkaline phosphatases in the central nervous system of *Schizodactylus monstrosus*, D. (Schizodactylidae : orthoptera). Effect of topical application of the pyrethrum. Neurochem. Int. 6, 383-386.

Belzunces L.P. and Colin M.E. (1991) Differential response of *Apis mellifera* acetylcholinesterase towards pirimicarb. NeuroReport 2, 265-268.

Bounias M., Dujin N., Popeskovic D.S. (1985) Sublethal effects of a synthetic pyrethroid, deltamethrin, on the glycemia, the lipemia and the gut alkaline phosphatases of honeybees. Pestic. Biochem. Physiol. 24, 149-160.

Bromenshenk J.J., Gudtis J.L., Carlson S.R. (1991) Population dynamics of honey bee nucleus colonies exposed to industrial pollutants. Apidologie 22, 359-369.

Cassier P., Lensky Y. (1991) Evolution du titre de l'hormone juvénile III, des ecdystéroïdes et d'une phéromone, la 2-heptanone, en relation avec le polyéthisme des ouvrières de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L. var *ligustica* (Hymenoptera ;Apidae). C. A. Acad. Sci. Paris Série 111, 312, 343-348.

Colin M.E. and Belzunces L.P. (1992) Evidence of synergy between prochloraz and deltamethrin : a convenient biological approach. Pestic. Sci. soumis.

Colin M.E. and Belzunces L.P. (1992) Impact of the synergism of pesticides on bees : biological effect of a combination of an insecticide with a fungicide. Workshop on: Bees for pollination, March 2-3 1992. European Community, Bruxelles.

- Davis A.R. (1989) The study of insecticide poisoning of honey bee brood. *Bee World* 70, 163-174.
- Davis A.R., Solomon K.R., Shuel R.W. (1988) Laboratory studies of honeybee larval growth and development as affected by systemic insecticides at adult-sublethal levels. *J. Apic. Res.* 27, 146-161.
- Davis R.M., Shuel R.W. (1988) Distribution of ¹⁴C-labelled carbofuran and dimethoate in royal jelly queen larvae and nurse honey bees. *Apidologie* 19, 37-50.
- Eldefrawi A.T. (1985) Acetylcholinesterase and anticholinesterases. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology* (Kerkurt G., Gilbert I.L., eds.) vol. 12, pp 115-130. Pergamon Press Oxford.
- Fiedler L. (1987) Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybees. *J. Apic. Res.* 20, 115-122.
- Finney D.J. (1985) The median lethal dose and its estimation. *Arch. Toxicol.* 56, 215-218.
- Fournier M., Chevalier G., Nadeau D., Trottier B., Krzystyniak K. (1988) Virus-pesticide interactions with murine cellular immunity after sublethal exposure to dieldrin and aminocarb. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1, 103-118.
- Gammon D. W. (1978) Neural effects of allethrin on the free walking cockroach *Periplaneta americana*: an investigation using defined doses at 15 and 32° C. *Pestic. Sci.* 9, 79-91.
- Herbert E.W., Argauer R.J., Shinanuki H. (1986) The effect of an insect chitin synthesis inhibitor of honey bees. *Apidologie* 17, 73-76.
- Huang Z. Y., Knowles C. (1990) Nicotinic and muscarinic cholinergic receptors in honey bee (*Apis mellifera*) brain. *Comp. Biochem. Physiol.* 97C, 275-281.
- Johansen C.A., Mayer D.F., Eves J.D. and Kious C.W. (1983) Pesticides and bees. *Environm. Entomol.* 12, 1513-1518.
- Laignelet L., Narbonne J.F., Lhuguenot J.C., Rivière J.L. (1989) Induction and inhibition of rat liver cytochrome(s) P-450 by an imidazole fungicide (prochloraz). *Toxicology* 59, 271-284.
- Linn C.E., Roelofs W.L. (1984) Sublethal effects of neuroactive compounds on pheromone response thresholds in male oriental fruit moths. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 1, 331-344.

- Maity N.K., Punia J.S. (1991) Effect of fluvalinate, a synthetic pyrethroid on learning and memory traces in rats. *Indian J. Exp. Biol.* 29, 178-179.
- Martin P.A., Solomon K.R. (1991) Acute carbofuran exposure and cold stress: interactive effects in mallard duckling. *Pestic. Biochem. Physiol.* 40, 117-127.
- Morton H.L., Moffett J.O. (1972) Ovicidal and larvicidal effects of certain herbicides on honey bees. *Environ. Entomol.* 1, 611-614.
- NRCC No.18471. Pesticide-pollinator interactions. National Research Council Canada. Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental quality, pp 94-111 .
- Nunamaker R.A., Hatvey A.J., Wilson W. T. (1984) Inability of honey bee colonies to rear Queens following exposure to fenthion. *Am. Bee J.* 124, 308-309.
- Olivari C., Pugliarello M.C., Cocucci M., Rasi-Caldogno F. (1991) Effects of penconazole on plasma membranes isolated from radish seedling. *Pestic. Biochem. Physiol.* 41, 8-13.
- Reddy A. T .V., Ayyanna K., Yellamma K. (1991) Sensitivity of brain cholinesterase to cypermethrin toxicity in freshwater teleost *Tilapia mossambica*. *Biochem. Int.* 23, 959-962.
- Robinson G.E., Page R.E., Strambi C., Strambi A. (1989) Hormonal and genetic control of behavioral integration in honey bee colonies. *Science* 246, 109-112.
- Robinson G.E., Strambi A., Strambi C. (1988) Regulation of honey bee behavioral plasticity by juvenile hormone. *Endocrinological Frontiers in Physiological Insect Ecology* (Sehnal F., Zabza A., Denlinger D.L. eds.). pp691-694. Wroclaw Technical University Press, Wroclaw.
- Rodgers K.E., Leung N., Ware C.F. (1988) Effects of acute administration of O,S,S-trimethyl phosphorodithioate on the generation of cellular and humoral immune response following in vitro stimulation. *Toxicology* 51, 241-253.
- Rossignol D.P. (1991) Binding of a photoreactive pyrethroid to B subunit of GTP-binding proteins. *Pestic. Biochem. Physiol.* 41, 121-131.
- Rowan A.N. (1981) The LD50 test: a critique and suggestions for alternatives. *Parmaceutical Technol.* april, 65-94.
- Schricker B. (1974) Der Einfluss subletaler Dosen von parathion (E605) auf das Zeitgedachtnis der Honigbiene. *Apidologie* 5, 385-398.

Schricker B. (1974) Der Einfluss sublethaler Dosen von parathion (E605) auf die entfernungsweisung bei der Honigbiene. *Apidologie* 5, 149-175.

Schricker B., Stephen W.P. (1970) The effect of sublethal doses of parathion on honeybee behavior. I Oral administration and the communication dance. *J. Apic. Res.* 9, 141-153.

Soderlund D., Bloomquist J.R. (1989) Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Ann. Rev. Entomol.* 34, 77-96.

Sparks T.C., Pavloff A.M., Rose R.L., Clower D.F. (1983) Temperature-toxicity relationship of pyrethroids on *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera : Noctuidae) and *Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera : Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 76, 243-246.

Staal G.B. (1986) Anti juvenile hormone agents. *Ann. Rev. Entomol.* 31, 391-429.

Stephen W.P., Schricker B. (1970) The effect of sublethal doses of parathion. II. Site of parathion activity and signal integration. *J. Apic. Res.* 9, 155-164.

Stones A., Wilson W.T., Harvey J. (1985) Honey bee exposure to bees wax foundation impregnated with fenvalerate or carbaryl. *Am. Bee J.* 125, 513-516.

Sun Y.P. (1950) Toxicity index. An improved method of comparing the relative toxicity of insecticides. *J. Econ. Entomol.* 43, 53.

Sun Y.P., Johnson E.R. (1971) Quasi-synergism and penetration of insecticides. *J. Econ. Entomol.* 65, 349-353.

Taylor K.S., Waller G.D., Crowder L.A. (1987) Impairment of a classical conditioned response of the honey bee by sublethal doses of synthetic pyrethroid insecticides. *Apidologie* 18, 243-252.

Wang C.M., Narahashi T., Scuka M. (1972) Mechanism of negative temperature coefficient of nerve blocking action of allethrin. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 182, 442-453.

Zbinden G., Flury-Roversy M. (1981) Significance of the LD50-test for the toxicological evaluation of chemical substances. *Arch. Toxicol.* 47, 77-99.

Le contexte de l'enquête épidémiologique réalisée par le CNEVA en 1998/1999 en Charente et Charente Maritime

Joël Schiro



Depuis 1981 et la contestation par les apiculteurs de " l'innocuité " de la plupart des Pyréthroides sur abeilles, (non seulement les traitement pleine fleurs, mais aussi, compte tenu de la rémanence de 2 à 4 semaines, les épandages avant floraison), il ne se passe pas une année, sans que, ici ou là, il n'y ait " une affaire abeilles ". Ainsi, bien avant l'affaire " Gaucho/ tournesol " en Vendée, mais après les fruitiers en vallée de Loire, les vignes en Alsace, les lavandes en Provence, en passant par les colzas en région Lyonnaise ou les porte graines dans le Lauragais, les années 1993/95 ont été marquées par les protestations des apiculteurs de Charente (16), qui se plaignaient de la disparition de leurs butineuses au début du mois de Juillet.

Pour une fois, on pouvait disposer de quelques éléments exploitables.

1. Les dépopulations étaient clairement circonscrites sur une zone bien déterminée : le secteur de Ruffec, entre le premier et le 15 juillet, à l'époque des traitements aériens contre la Pyrale du maïs, réalisés selon les cas, avec les spécialités commerciales et aux doses suivantes : - " PERTHRINE MG " 25KGS/HA, - " KARATE " 0,25L/HA+HUILE " SEPPIC " 2,75L/HA, - " DECIS MG2 " à 25KGS/HA
2. Les apiculteurs accusaient surtout, " LA PERTHRINE ". (MA. Perméthrine).
3. Quelques résultats d'analyses (1994) indiquaient la présence de " perméthrine ", " fluvalinate " ainsi que " lambdacyhalothrine " dans les abeilles mortes. Cas rarissime, il a été retrouvé des résidus de perméthrine et lambdacyhalothrine dans du miel de tournesol, au demeurant fortement marqué par des miellées annexes, miellats et toutes fleurs divers.

Contrairement à une idée communément répandue, la mise en œuvre en Mars 1998 de l'enquête Charente, à laquelle le SPMF a financièrement participé, n'a rien à voir avec l'affaire Gaucho. Cette pure coïncidence tient uniquement aux délais de financement et mise en place (100 ruches expérimentales réparties en 20 ruchers appartenant à une douzaine d'apiculteurs différents, sur 2 département et un périmètre de 360 Kms). C'est la plus vaste enquête apicole qui ait jamais été réalisée en France à ce jour. Il convient de signaler que, entre temps, les apiculteurs locaux étaient intervenus auprès des coopératives et sociétés de traitements par hélicoptère pour faire remplacer " la PERTHRINE MG " par " KARATE " (lambdacyhalothrine), qui, à leurs yeux, provoquait moins d'empoisonnement

d'abeilles. Ainsi, quatre ans après, bien que supportant des moyennes de récolte à la ruche nettement inférieures aux années 80, ils témoignaient de pertes de butineuses bien moindres que ce qu'ils avaient vécu dans les années 1992/95.

Nous ne connaissons pas les conclusions de l'expérimentation scientifique qui n'ont pas encore été publiées. Par contre, sur le plan apicole, les résultats, au demeurant sans surprises, sont connus.

1. Il n'y a pas eu d'intoxications massives, mais, comme partout ailleurs en zone de cultures depuis 20 ans, une succession de " mini problèmes ", surtout de mai à Juillet : faibles mortalités à certains moments, dépopulations plus ou moins marquées à d'autres.
2. La " zone de Ruffec ", à l'origine des troubles et initialement sous productrice en miel de tournesol, s'avère, dans le cadre de l'enquête et sur le seul critère apicole de récolte à la ruche, plutôt moyenne, voire surproductrice.
3. Comme partout ailleurs en zone de cultures les récoltes ont été très irrégulières : de 13 à 30 kgs de moyenne par rucher pour le colza, de 8 à 53 kgs pour le tournesol.
4. Globalement, les pertes sont énormes. Prés de 20% à la sortie de l'hivernage, et 30% à la fin de l'expérience. Toutefois, certains ruchers ont conservé toutes leurs colonies (perte 0%) alors que sur d'autres il n'est resté qu'une ou deux ruches vivantes. (Perte 80%).

Tous les techniciens, pourront confirmer qu'il n'y a rien là de très nouveau. N'importe quel apiculteur évoluant en zone de culture industrielle, peut, depuis très longtemps et tous les ans, faire hélas, les mêmes constatations.

Il serait étonnant que, compte tenu de l'inefficacité scientifiquement démontrée des analyses de résidus sur abeilles (voir §5) une explication simple, claire, incontestable et rationnelle soit fournie à ces anomalies. Il n'en reste pas moins que cette étude est considérable et que les travaux à venir devront en tenir compte. Peut être la décision politique et les moyens financiers seront-ils un jour débloqués pour, enfin, mettre au point la technique indispensable au diagnostic d'intoxication sur le terrain, soit à partir de l'analyse des abeilles mortes, soit par toute autre méthode.

Communication de la Coordination des Apiculteurs

28 septembre 2001

A l'attention des membres du "Comité de pilotage de l'étude multifactorielle



Mesdames et Messieurs,

Nous vous invitons à prendre connaissance du document ci-joint, qui fait le point sur les réactions du Ministère de l'Agriculture en réponse au problème de la dépopulation subite et massive des colonies d'abeilles engagées sur la miellée de tournesol, que nous avons dénoncée dès l'été 1994.

Ce document explique notre défiance envers les travaux que votre comité se propose de piloter: en effet, il apparaît que le bilan de l'ensemble des études menées depuis 6 ans, dispense de toute nouvelle étude multifactorielle. Le reniement de pareil bilan n'est d'ailleurs pas de nature à nous rassurer quant à la volonté des pouvoirs publics de tirer les justes leçons de nouvelles études dont les résultats ne seraient d'ailleurs connus qu'en 2004, 2005 ou plus tard encore.

Nous affirmons solennellement que toute nouvelle année qui n'aura pas apporté la solution, connaîtra inévitablement une série de cessations d'activité d'apiculteurs, sans compter la désespérance généralisée des sursitaires.

Nous avons scrupuleusement suivi le cadre que le Ministère de l'Agriculture avait fixé, parce que celui-ci affichait de bonnes intentions et nous paraissait s'imposer comme interface naturelle et impartiale entre les nombreux protagonistes du problème apicole. Mais au fil des mois, il a fallu nous rendre à l'évidence : le Ministère, pour des raisons qu'il ne nous appartient pas d'évoquer, n'a jamais voulu prendre la vraie mesure du problème, qui dépasse largement le seul domaine de l'apiculture.

Lorsque le 18 décembre 2000, Mme Geslain-Lanéelle nous a annoncé qu'une étude multifactorielle serait lancée, nous avons déclaré vouloir y collaborer malgré notre conviction qu'elle était superflue, à la condition toutefois que soient suspendus sur l'ensemble du territoire français :

- l'usage de GAUCHO sur toutes cultures, conséquence logique du bilan de l'expertise passée, ainsi que.
- L'usage du Régent sur tournesol, au titre du principe de précaution, dans la mesure où Aventis non seulement avait été de mauvaise foi en cherchant à occulter les capacités systémiques du fipronil, mais en plus n'a pas été en

mesure de répondre à nos interrogations concernant de prétendues études apidologiques menées depuis 1999, qui ne sont pas de nature à nous rassurer.

Aussi, tant cette condition ne sera pas effective, il est hors de question que nous apportions notre concours à l'étude multifactorielle. Veuillez agréer, Mesdames et Messieurs, l'expression de nos salutations distinguées.

La Coordination des Apiculteurs



Relevé des observations sur la miellée de tournesol.

Autrefois, la culture de tournesol était source de miellée régulière et abondante. en Région Centre, celle-ci assurait de 40 à 55 kg de miel par ruche, en Poitou-Charentes- Vendée de 60 à 75 kg

Concomitantes avec l'introduction du traitement insecticide GAUCHO de la semence de tournesol - selon la région: entre 1994 et 1996 -, des dépopulations brutales et drastiques sont constatées en début de miellée de tournesol. Moins de butineuses signifie moins de récolte: 4 ans plus tard, le déficit de production atteint de 50 à 70 %.

Durant les années qui ont suivi, les apiculteurs ont vérifié d'autres indices liant ces problèmes de dépopulation en été, au butinage des cultures de tournesol traitées ou contaminées par l'imidaclopride. Et notamment les suivants .

- tant que la miellée de tournesol n'est pas déclenchée -et selon l'année et la région, ce moment se situe entre fin juin jusqu'aux alentours du 25 juillet -, la colonie exploite normalement la miellée en cours: châtaignier, toutes fleurs, luzerne, trèfle, miellat ou autre encore. Ainsi peut-elle amasser certaines années, 30 kg de miel toutes fleurs, avant de s'écrouler irrémédiablement en enchaînant avec la miellée de tournesol en l'espace de quelques jours.
- dans un secteur où le GAUCHO est très présent, tous les ruchers et toutes les ruches du même rucher sont affectés. Il a toutefois été constaté -et c'était plus fréquent avant 1999 -qu'à l'intérieur d'une vaste zone à problèmes, des îlots y échappaient: aussi, le 31 juillet 1998, à l'occasion d'une réunion de terrain en Sud-Vendée, de nombreux représentants du Ministère de l'Agriculture, de BAYER, de la filière agricole avaient-ils préconisé des enquêtes culturales sur le secteur de l'Ile d'Elle et de Marans, après y avoir constaté que les ruches y amassaient de 4 à 6 hausses de miel, alors que 10 km plus loin, l'unique hausse posée ne se remplissait que partiellement.

- malheureusement et faute d'un financement, il a été renoncé à cette enquête qui devait vérifier que ces îlots correspondaient à une sensiblement moindre pression GAUCHO.
- plutôt que de pouvoir être assimilé à un butinage efficace, très souvent le comportement de l'abeille sur la fleur de tournesol évoquait des signes parents de l'intoxication (dépendant du champ et du moment de la journée, cela pouvait concerner 1 abeille sur 3, voire 1 sur 2).
- la dépopulation est telle qu'à l'intérieur de la ruche, la colonie s'organise afin de neutraliser les pertes par intense élevage: alors qu'autrefois, la miellée de tournesol bloquait systématiquement la ponte de la reine, désormais le nid de couvain s'étend sur 6 à 8 cadres, mobilisant ainsi des cohortes de jeunes abeilles qui autrement auraient plus vite été employées dans les travaux de butinage. D'ailleurs, les champs de tournesol semblent parfois être désertés par les abeilles.
- s'ils en ont la possibilité, certains apiculteurs transhument leurs ruches loin de la culture intensive en plaine. Ce faisant, ils évitent le problème de dépopulation: en l'occurrence, ils appliquent une mesure prophylactique.
- à la fin de la floraison du tournesol, et pour autant qu'elle n'ait pas été trop " décimée ", la colonie peut reprendre le dessus et reconstituer une population lui permettant d'affronter l'hiver. Pour d'autres -trop affaiblies -l'issue ne peut être que fatale.
- dans les zones de grande culture où sont répertoriées les intoxications, les mortalités de colonies, en fin d'hiver lorsque les abeilles reprennent l'élevage en prélevant le pollen stocké, ont augmenté parallèlement et s'élèvent à environ 30% alors qu'elles plafonnaient naturellement à 5 %.



Les diverses réponses à ce problème apicole sur miellée de culture d'été.

1. L'enquête épidémiologique CNEVA en Région Poitou-Charentes : 1996-1998.

En constatant des problèmes inédits sur la miellée d'été dès 1994, confirmés en 1995, les apiculteurs de Poitou-Charentes, confiants, ont collaboré à une enquête, dite épidémiologique.

Préparée dès 1996 et réalisée en 1997/1998 par le CNEVA-Nice (désormais intégré dans l'AFSSA) sur des fonds régionaux et européens (montant total: 950 kF), cette enquête n'aurait à l'heure actuelle, toujours pas fait l'objet d'un début de rapport, et n'en ferait probablement jamais l'objet, à en croire les propos tenus par le Directeur de l' AFSSA -Nice, en octobre 2000.

Malheureusement pour l'apiculture, mais il semblerait que l'AFSSA -Unité

Abeilles " se soit perdue dans la jungle des données récoltées " lors de cet humble enquête épidémiologique.

2. L'étude multifactorielle gérée par DGAL -INRA -ACTA: 1998

Cette étude a été recommandée le 11 décembre 1997, par la Commission des Toxiques, après avoir entendu le rapport de MM. Belzunces et Taseï : "GAUCHO (BAYER) à base d'imidaclopride. Effets des traitements de semences de tournesol sur abeilles".

Considérant alors que " il n'y avait pas assez de rigueur et de stabilité dans les rapports de terrain provenant des apiculteurs pour affirmer que le GAUCHO est la seule cause de troubles dont les colonies d'abeilles sont victimes ", les rapporteurs ont conclu que: " Il y a donc une obligation urgente à étudier de front les hypothèses diverses pour expliquer ces phénomènes, en tenant compte de la diversité des variétés cultivées et des sols ".

Pour un montant initial de 6.800 kF, l'incidence de tous les facteurs pouvant expliquer "les baisses de miellées de cultures d'été " a été évaluée, et plus particulièrement :

- l'incidence sur la nectarification du tournesol, selon choix variétal, type de sols, région climatique, en présence ou non de l'irrigation
- la recherche de synergies toxicologiquement significatives pour l'abeille, entre l'imidaclopride et des acaricides, des pyréthrinoïdes de synthèse ainsi que des fongicides.
- la recherche en laboratoire ou en milieu confiné, de quelques effets biologiques sur l'abeille, au contact de doses subléthales d'imidaclopride et de ses métabolites.
- la recherche de résidus dans les différentes parties de la plante, sur la butineuse, dans les produits de la colonie.
- des essais comparatifs sur le terrain : épreuve épidémiologique consistant à suivre dans une zone d'expérimentation, deux groupes de colonies d'abeilles identiques à tout point de vue. D'un groupe étant placé dans un site où 3 km aux alentours aucune culture de tournesol n'est traitée GAUCHO, l'autre groupe éloigné de 6 - 10 km, dans un site où tous les tournesols sont traités.

Cette étude multifactorielle 1998 désigne le GAUCHO comme unique cause plausible. Elle a amené la Commission des Toxiques à aviser, en décembre 1998, que " (...) sur tournesols traités on ne peut conclure à l'absence de risques pour l'abeille ".

Malheureusement pour l'apiculture, cette étude multifactorielle n'a pas prêté à

conséquence autre que la décision ministérielle de suspendre le GAUCHO sur tournesol uniquement, en attendant les résultats d'études complémentaires à mener en 1999-2000.

Cette position pouvait d'autant mieux être soutenue dans la mesure où l'étude multifactorielle, dans sa partie " essais comparatifs de terrain ", avait sévèrement échoué, et pour cause: l'imidaclopride étant présent en site témoin comme en site traité.

Dans le site témoin, non seulement le maïs traité GAUCHO fournissait-il aux colonies un pollen contaminé par l'imidaclopride, en plus a-t-il fallu se rendre à l'évidence que la persistance dans les sols de reliquats du toxique sur traitements précédents et ses excellentes propriétés systémiques - notamment dans la plante de tournesol et de maïs - rendaient ces plantes contaminantes à un niveau comparable à celui de plantes issues de semences traitées.

3. Les études complémentaires sur l'imidaclopride : 1999-2000

3-1 S'agissant du métabolisme de l'imidaclopride dans les parties de la plante accessibles à l'abeille : BAYER, CETIOM, INRA relèvent que certainement déjà l'imidaclopride est présent dans le pollen et le nectar de fleurs de tournesol GAUCHO, à des niveaux de l'ordre du ppb : par exemple, BAYER mentionne resp. 3,3 et 1,9 ppb

3-2 S'agissant de la persistance du toxique dans les sols et sa présence dans les cultures non traitées, l'importance de l'imidaclopride est confirmée.

Par exemple, le CETIOM constate que le pollen d'un tournesol implanté dans un sol n'ayant pas connu d'antécédent GAUCHO depuis l'année N-3 est contaminé :

- dans 7 champs sur 7 avec une moyenne de 0,9 ppb pour un tournesol traité en N
- dans 4 champs sur 7 avec une moyenne de 1,2 ppb pour un tournesol non traité !

3-3 S'agissant des effets toxicologiques sur l'abeille, notons que dès 1995, BAYER avait tenté de rassurer les apiculteurs de la Région Centre en organisant, sur le terrain et en tunnel, des études apidologiques qui relèvent désormais de l'anecdotique.

Par contre, les nombreux rapports d'études toxicologiques remis en 1999-2000 à la Commission des Toxiques, tant par BAYER que par les chercheurs du secteur public, démontrent qu'il faut s'attendre à des effets biologiques préjudiciables pour l'abeille et/ou sa colonie, dès lors que l'abeille est exposée à des sources de nourriture contaminées par l'imidaclopride à des concentrations de l'ordre de

quelques ppb.

Malheureusement pour l'apiculture, la commission des Toxiques annonce sur ce chapitre des " éléments à décharge " qu'elle pourra difficilement justifier : " Bien que dans les essais expérimentaux plein champ, aucun effet sur l'orientation , la communication dans la ruche, la consommation de sirop ou le développement des colonies n'ait été observé aux doses d'emploi recommandées pour l'imidaclopride, .".

Qu 'il nous soit permis, à la lumière des propos suivants, d'accuser la Commission des Toxiques d'une légèreté certaine.

- a. a) La référence " aux doses d'emploi recommandées " n'est pas appropriée dans la mesure où ces "études à décharge pour le GAUCHO " ont toutes concerné des sirops de miel ou de glucose artificiellement contaminés. La dose d'emploi recommandée d'un traitement industriel de la semence ne dit en effet pas beaucoup sur les concentrations de l'imidaclopride dans la plante, dans son pollen et son nectar: l' expression du toxique est fonction de nombreux paramètres, liés notamment aux multiples caractéristiques du sol, au climat, au choix variétal.

Qui plus est: sa variabilité parmi les plantes d'un même lot et/ou du même champ est importante et des rapports de 1 à 10 sont mentionnés.

Ce constat devrait inviter les experts à appliquer un facteur de sécurité sur les doses ou concentrations admissibles sur le terrain (ainsi en toxicologie humaine et animale, il est fréquent de faire appel à des facteurs de sécurité de 100).

- b. Dans notre sujet écotoxicologique, il suffirait d'un facteur de sécurité de quelques unités pour que des éléments dits à décharge ne deviennent à charge.

Si la capacité d'orientation de l'abeille est affectée par simple ingestion, donc sans qu'il y ait consommation notable, d'un sirop contaminé à une concentration entre 10 et 20 ppb, de même que l'est la communication dans la ruche (travaux 1998 du Prof Kirchner pour BAYER), un écotoxicologue ne prétendra jamais que ces facultés ne puissent être affectées dans un environnement où le toxique peut être présent à hauteur de plusieurs ppb.

A fortiori il ne pourrait être question, dans l'avis des experts, d'éléments à décharge.

- c. Les résultats d'études qui prouveraient que l'imidaclopride ne serait sans effet sur la consommation de sirop et le développement des colonies sont probablement empruntés à l'étude BAYER SXR/Am 004, bien que ne concernant pas une colonie de 40 à 50.000 abeilles, en plein champ -comme

le suggérait l'avis -mais plutôt un nucléus de 500 abeilles sous tunnel étanche.

Comment les chercheurs de BAYER, dans cette étude qui explore le problème de fond qu'est celui d'une dépopulation de la colonie, ont-ils pu conclure que le toxique jusqu'à 20 ppb n'avait pas d'effet négatif sur l'évolution de la population, alors que visiblement ils ne disposaient même pas des outils et/ou de la compétence pour mesurer la grandeur d'un nucléus. Et pour, cause: dans 5 tunnels sur 6, entre jours J=3 et J= 15, le nucléus croît, et même d'un taux de 350% pour le tunnel à la concentration la plus grande (20ppb) : bien au contraire, il aurait fallu constater une régression de la population à la suite d'une certaine mortalité naturelle, laquelle ne pouvait être contrebalancée dans ce tunnel insect-proof avant J=22, jour du premier couvain naissant.

A lire l'avis de la commission des Toxiques, aucun de ses 50 experts n'aurait trébuché sur cette erreur cruciale et tous auront entériné le refrain de BAYER : aucune incidence sur la population !

Comme éléments " à charge " pour GAUCHO, l'avis ne tient compte que du test de conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis et cite comme concentration critique la concentration de 12 ppb, alors qu'il faudrait écrire que la concentration critique se situe entre 6 et 12 ppb.

Qu'est-ce qui vaut que, dans l'avis de la commission des Toxiques, ce critère -avec effet entre 6 et 12 ppb -est inscrit " à charge " alors que les critères de la communication et de l'orientation -avec effet entre 10 et 20 ppb -le sont " à décharge " ?

Un critère plus sensible encore a été étudié par le Dr M.E. Colin (INRA Avignon) : le comportement de butinage. Ces résultats ont été boudés par la Commission des Toxiques car le protocole de cette étude ne lui aurait pas été communiqué.

Les apiculteurs s'en étonnent, d'autant plus que ce protocole a fait l'objet d'une présentation et d'une discussion en janvier/février 1998 dans le Comité de Pilotage et qu'il a été validé au point d'être décrit et d'avoir donné lieu à la publication des résultats dans le Rapport de Synthèse 1998 : effet de l'imidaclopride sur le comportement de butinage dès 6 ppb, étant entendu que des concentrations plus basses doivent encore être testées dès 1999.

Le 28 juin 1999, une réunion sous la présidence de M. R Mestres (DGAL) devait aussi permettre aux membres présents de la Commission des Toxiques et de la Commission d'Eco-Toxicologie de faire leurs recommandations à l'occasion de la présentation par les chercheurs des études à mener en 1999-2000. Le Docteur Colin a dit ses intentions, et notamment celle de tester des concentration. d'imidaclopride inférieures à 6 ppb sur le critère " comportement de butinage " selon le protocole

1998, sans que cela ne prête à commentaire sur le protocole concerné !

En fin d'année 1999, le Dr Colin a rendu compte: la concentration critique de l'imidaclopride sur le comportement de butinage de l'abeille se situe entre 1,5 et 3 ppb.

4. L'étude multifactorielle, l'enquête épidémiologique ou multifactorielle : 2001 -?

En supposant un instant que ce genre d'étude fasse émerger fin 2002, courant 2003, d'autres suspects sérieux, jamais il ne sera possible d'établir dans la foulée de(s) relation(s) de cause à effet. Chaque suspect devra ensuite, selon des protocoles parfois encore à créer, être évalué quant à sa réelle implication dans le problème.

Lorsqu'ils songent que six années d'études et d'analyses n'auront toujours pas permis - malgré les preuves de plus en plus nombreuses et de plus en plus flagrantes- aux experts, aux scientifiques et à l'Administration de s'accorder sur le degré de responsabilité du GAUCHO - seul suspect en lice - les apiculteurs désespèrent de sauvegarder l'abeille, tellement ils ont la certitude que GAUCHO est coupable entier. Nombreux sont ceux qui dans cette affaire " jouent la montre " : pour les apiculteurs le temps leur est désormais compté.

En dehors d'assurer à l'apiculture du répit, la condition de suspendre GAUCHO Sur toutes cultures et REGENT sur tournesol permettra à terme d'organiser des épreuves épidémiologiques de terrain. Afin de ne pas tomber dans les travers de l'épreuve épidémiologique de 1998, où les sites témoins et sites traités ne se distinguaient plus , notamment à cause de l'imidaclopride résiduel, il faudrait effectivement de 2 à 3 ans pour décontaminer tout sol de traces significatives de fipronil ou d'imidaclopride.

La règle du "On ne peut pas conclure"

Par Joël Schiro (point de vue personnel)

Janvier 2002



On l'aura compris à la lecture de cette brève rétrospective, l'évaluation de l'incidence des produits phytosanitaires sur les abeilles souffre d'un dysfonctionnement structurel.

Grossièrement reconstituées, les choses se sont passées de la façon suivante :

A l'origine, il y a le " décret abeille " (arrêté interministériel paru au JO du 20.02.1976, remplacé depuis par l'arrêté du 5 Juillet 1985). Désormais, les traitements au Lindane ou au Parathion, molécules les plus utilisées à l'époque, de parcelles dans lesquelles la moindre fleur, cultivée ou adventice, est ouverte, sont interdits. (1) Le produit phare de remplacement, celui qui sert de référence, c'est la Phosalone. L'erreur originelle vient de là.

Contrairement aux molécules précédentes qui provoquaient des mortalités spectaculaires (2) de plusieurs dizaines de milliers d'abeilles devant la ruche, (au point, souvent, d'obstruer la planche d'envol), la Phosalone ne tuait les butineuses que par temps très chaud, et, de surcroît, elles mourraient au champ créant ainsi l'illusion d'une non toxicité. A l'époque, tellement peu d'apiculteurs ont signalé, (timidement), le phénomène, que leurs observations n'ont même pas été entendues.... Ils ne disposaient de toutes façons que d'un tout petit institut technique, qui, même s'il avait été témoin du problème, n'avait pas les moyens de l'étudier.

La véritable prise de conscience ne s'est faite, 5 ans après, qu'avec l'arrivée des Pyréthroides de synthèse, Deltaméthrine en particulier puisque c'était le plus commercialisé.

Le désaccord avec l'industrie phytosanitaire peut se résumer en deux points. **Il n'y a pas d'empoisonnement puisque :**

1. **On ne retrouve quasiment pas d'abeilles mortes devant les ruches.**
2. **Et, de toutes façons, il n'y a pas de résidus dans ces abeilles.**

Les recherches scientifiques très nombreuses effectuées depuis dans de nombreux pays ont démontré :

1. **Que ces molécules provoquent une perte du sens de l'orientation**, ce qui explique que les butineuses ne rentrent pas à la ruche,

2. **Et que les analyses de résidus sur abeilles n'ont strictement aucune fiabilité** puisque, dans les meilleures conditions de laboratoire, on ne retrouve que de 3 à 39% de la dose inoculée. Des abeilles laissées 7 jours à la température ambiante, délai fréquent des prélèvements sur le terrain, ne contiennent plus de quantité décelable... (3)

Or, malgré ces éléments il n'y a eu aucune évolution, ni dans les pratiques agricoles, ni dans les procédures d'homologations, ni dans la réglementation.

Cette situation a entraîné depuis le début des années 80 et sur tout le territoire national, un comportement apicole adapté à cette " zone de non droit ". C'est ce comportement d'adaptation et de survie qui est source aujourd'hui de la plus grande confusion. Sans un retour au " raté initial " de 1976, les observateurs extérieurs ne pourront pas comprendre le problème posé aujourd'hui.

1. En premier lieu, malgré des intoxications quasi hebdomadaires (voir § 8, l'enquête éco-pathologique et les résidus dans le pollen) presque plus personne n'a fait de prélèvements d'abeilles. À quoi bon perdre son temps et son argent, puisque, de toutes façons, il est démontré que les analyses de résidus sur abeilles, dans les conditions de terrain, n'ont strictement aucune fiabilité.
2. Sauf rares cas particuliers, les apiculteurs n'ont plus sollicité les assurances. Comment auraient-ils pu recevoir leurs indemnités puisqu'il n'est pas possible de rapporter la moindre preuve de l'empoisonnement. En outre, l'assurance est faite pour couvrir les risques aléatoires, pas les risques prévisibles.
3. Dès le début des années 80, l'explosion des surfaces emblavées en variétés de tournesol spectaculairement nectarifères a tout masqué. (Certaines régions dépassaient 60kgs par colonie. Les ruchers à 100kgs de moyenne n'étaient pas rares, certaines ruches dépassant 200kgs. Par endroits, même les bourdonneuses remplissaient leur hausse, voire davantage). Certes il y avait toujours les empoisonnements du printemps et de très grosses pertes hivernales. Mais tout cela était supportable. Chacun s'adaptait techniquement (transhumance hors zone à culture, achats massifs de reines, essaïms ou paquets d'abeilles, y compris importés d'autres continents) en fonction de son environnement.
4. En outre, l'épandage des produits phytosanitaires est fonction de divers paramètres souvent très éloignés de la pure rationalité sanitaire. Chaque micro région a ses " modes " ou ses habitudes en fonction de l'influence de telle ou telle coopérative ou personnalité locale. Il existe des " cantons à problèmes " et d'autres nettement moins risqués. L'évolution de la politique des prix agricoles n'est pas non plus sans conséquences. Par exemple, " la PAC 92 " a été, au moins pendant un temps dans certains secteurs, un vrai bonheur pour les abeilles. Comme le revenu à l'hectare dépendait moins du rendement, la pression phytosanitaire a considérablement diminué. Par

contre, dans d'autres endroits, probablement à cause du changement des méthodes culturales, la baisse de pression phytosanitaire ne s'est pas traduite par une augmentation de la production de miel.

On pourrait poursuivre, mais ce document n'a aucune prétention à l'exhaustivité. On l'aura compris, chaque apiculteur " se débrouille comme il peut ", en fonction de son " feeling " ou de ce qu'il sait des paramètres de son environnement professionnel. Cela, bien sûr, dans l'ignorance quasi totale de ce qui peut se passer " ailleurs ".... " Ailleurs " dans d'autres régions, mais aussi " ailleurs ", sur des sols différents, d'autres variétés cultivées ou d'autres races d'abeilles... Dans ces conditions, il ne faut pas s'étonner de l'hétérogénéité des témoignages.

C'est dans ce contexte que sont arrivées, sur tournesols qui jusque là n'étaient pas traités (4), dans un premier temps les fongicides contre le Phomopsis, puis, très rapidement les molécules d'enrobage de semence. Pendant la même période, de nouvelles variétés ont été semées, dont nous ne connaissons pas les potentialités nectarifères (On ne sait rien non plus de l'évolution concomitante de l'attrait " pollinifère ", ni des traitements, des nouvelles variétés de maïs).. En outre, après 10 ans d'infestation par Varroa, sont apparues les résistances du nouveau parasite aux premiers traitements... C'est peu dire que nous maîtrisons encore mal cette nouvelle pathologie : Symptomatologie ?, Incidence du climat ?, Étiologie ?, Thérapeutique ? Résistance ?, Pathologies associées ?,tout ou presque reste à découvrir. En dernier lieu, chacun étant toujours occupé à gérer l'urgence, personne n'a la moindre idée des conséquences à long terme des importations massives d'abeilles non Européennes.

En bref, depuis des années la situation devenait de plus en plus fragile. **Il fallait bien qu'un jour on atteigne le point de rupture. C'est arrivé vers 1995/97, et ça ne s'est pas arrangé depuis.**

Pendant 20 ans toutes les plaintes des apiculteurs, suivies ou non par des expérimentations scientifiques, s'étaient toutes terminées de la même façon : " ON NE PEUT PAS CONCLURE ". Moyennant quoi, les autorités concluaient quand même. Mais, systématiquement toujours dans le même sens, : il n'était tenu aucun compte de tout ce que pouvaient dire les apiculteurs, pourtant appuyés par des travaux scientifiques incontestables.. Ainsi la Phosalone a continué très longtemps à servir de référence " emploi autorisé en pleine floraison ", de nombreux Pyréthroides (entre autre), ont obtenu " le label abeille " contre toute logique, et personne ne s'est jamais vraiment soucié, concrètement, de savoir ce qui se passait réellement sur le terrain,.

Dans " le dossier Gaucho ", l'avis donné par les experts consultés en 1997 : " le caractère toxique de ce produit sur les abeilles ne peut être ni confirmé, ni infirmé " n'a pas dérogé à la règle habituelle du " ON NE PEUT PAS CONCLURE ". Or, pour la première fois, JEAN GLAVANY, Ministre de l'agriculture, a conclu en

faveur de l'abeille. Une première fois en 1998, (suspension de l'emploi des semences Gaucho/tournesol en Vendée, dans l'Indre et les Deux-Sèvres) mesure étendue nationalement en 1999, et confirmée en 2001. Ainsi, bien que les études présentées disaient, comme d'habitude, " ON NE PEUT PAS CONCLURE ", le ministre actuel a enfin décidé que, puisqu'on ne pouvait pas conclure, il convenait cette fois ci d'appliquer, au bénéfice de l'abeille, " le principe de précaution ".

Les réactions de groupe sont parfois surprenantes. Ainsi, certains apiculteurs n'ont pas sitôt appris la nouvelle, qu'ils envisageaient de se lancer déjà dans une procédure au motif suivant : en ne suspendant la molécule que sur les semences de Tournesol, le ministre n'était pas allé assez loin. Heureusement, le fabricant qui a lancé une assignation inverse, a permis aux apiculteurs de se joindre à la procédure, aux côtés du ministre plutôt que contre lui. Aujourd'hui, la grande majorité d'entre nous refuse d'entendre parler de toute recherche supplémentaire, estimant que les preuves de la responsabilité quasi unique des deux molécules d'enrobage sont établies. Le monde apicole semble majoritairement décidé à boycotter l'enquête multifactorielle proposée, pour essayer d'y voir un peu plus clair.

Et pourtant !. Si on veut bien s'arrêter deux minutes, la synthèse de ce qui s'est passé sur le terrain depuis 4 ans est relativement simple :

- Après la suspension sur 3 départements en 1998, les intoxications ont continué.
- Après le retrait provisoire sur tout le territoire national en 1999, les intoxications se sont poursuivies,
- Courant 2000, puis en 2001, les intoxications, n'ont toujours pas cessé. Pire, il y a eu davantage de " problèmes cheptels " (pertes automnales, hivernales ou printanières), et une aggravation significative de la baisse des récoltes de miel.

En bref, depuis la suspension des semences tournesol enrobées " Gaucho ", plus le temps passe, et plus les problèmes s'aggravent. Il faut donc se rendre à l'évidence. Ce que certains apiculteurs, prennent pour des empoisonnements par les remontées d'Imidaclopride de l'année précédente, sont en fait des intoxications " classiques ", en particulier par épandages aériens " normaux ". (5)

D'ailleurs, comment pourrait-il en être autrement.

- Si on admet que la plupart des pyréthroides nous empoisonnaient il y a déjà 20 ans, qu'ils ont continué tous les ans depuis, on ne voit pas pourquoi cela cesserait aujourd'hui.
- Comme personne ne conteste que la Phosalone a servi, à tort, de référence " emploi autorisé en pleine floraison ", il est logique de penser qu'une partie au moins des molécules homologuées ensuite sur ce " modèle " continue à intoxiquer les abeilles.

- On admettra enfin, à la lecture des chapitres précédents, que toutes les intoxications recensées avant la commercialisation (puis la suspension partielle) des molécules systémiques d'enrobage de semences, n'ont pas cessé miraculeusement.

Tout cela est donc devenu beaucoup trop confus. Il faudra bien un jour que les apiculteurs réfléchissent aux dangers de vouloir trop simplifier, une réalité redoutablement complexe.

Cinq ans de frénésie médiatique ont succédé à 20 ans de palabres inutiles. Le refus de collaborer, même s'il peut se comprendre, ne conduira qu'à une impasse. Il faut donc tout faire pour sortir du manichéisme et renouer les fils d'un dialogue, qui, lorsqu'on veut bien y regarder de près, a été rompu depuis très longtemps.....et pas par la faute des apiculteurs....

Regardons les choses en face. Avec ou sans les producteurs, baptisée enquête multifactorielle ou autrement, cette étude aura lieu. Nous aurions intérêt à ce que les chercheurs ne se placent plus à l'échelle de l'abeille mais de la colonie. Il serait bon également de tenir compte de tous les paramètres et en particulier l'incidence des doses inférieures à la DL50 (6),

Or, en notre absence, le risque est grand de voir, une fois de plus, certains travaux se fourvoyer dans des protocoles inadaptés. On ne peut pas faire des expérimentations sur les abeilles comme on en fait sur les rats ou les blattes. Si, depuis plus de 20 ans, " ON NE PEUT PAS CONCLURE ", c'est justement pour l'essentiel parce que les apiculteurs n'ont pas été suffisamment associés aux protocoles et aux expérimentations de terrain.

Par ailleurs, il n'est pas normal de faire comme si les maladies n'existaient pas. " Il serait dangereux, au prétexte de ne pas gêner le combat syndical en cours sur l'Imidaclopride, de nier les problèmes réels que nous avons à maîtriser :

- l'infestation varroa
- et ses conséquences sanitaires en cascade

Une telle attitude est incompréhensible. Elle ne peut être la base d'un comportement syndical car elle va contre l'intérêt des apiculteurs. "

déclarait un collègue le 18 janvier 2001 à l'occasion de la dernière réunion d'information phytosanitaire organisée à Toulouse par le SAPMP. On ne peut qu'approuver. Ceux qui nient le facteur sanitaire ne sont pas plus crédibles que ceux qui, en l'exploitant de manière simpliste, voudraient occulter les problèmes toxicologiques.....

Depuis 5 ans, toutes les recherches ont été concentrées sur une seule hypothèse :

Imidaclopride (et Fipronil depuis 2 ans) sont les responsables quasi uniques de tous les problèmes de cheptel apicole. Hélas, si cela avait été aussi simple, les preuves auraient déjà été trouvées. C'est donc une hypothèse inexacte, et le boycott de la solution proposée par le ministre de l'Agriculture procède de la même logique perverse : l'entêtement dans l'erreur. Si une étude plus large est menée, on découvrira, dans les moindres détails, une réalité complexe que beaucoup d'apiculteurs ressentent intuitivement (7) :

- Absence de nectarification de plusieurs variétés (parfois liée à certains types de sols ou pratiques culturales) en zones de cultures industrielles,
- Fragilisation des colonies d'abeilles suite à diverses pathologies, " naturelles " ou induites par certains produits phytosanitaires,
- Et surtout, **empoisonnements répétés tout au long de l'année**, soit par mésusages, soit à cause de molécules homologuées " pleine fleurs " suite à des protocoles inadéquats.

Les périodes de crise sont toujours douloureuses mais jamais éternelles. Souhaitons que la crise actuelle conduise à une remise à plat des procédures d'homologations, que soit créé enfin un véritable Institut technique apicole doté des moyens humains et financiers indispensables à l'ampleur de la tâche à accomplir, et, pourquoi pas, qu'à l'avenir, les firmes, avant même les procédures d'homologation, prennent l'habitude de collaborer avec les apiculteurs afin d'éviter les polémiques et pertes financières ultérieures.

Joël Schiro

Email : jschiro@adour-bureau.fr

Janvier 2002

(1). " Lorsque des plantes mellifères en fleurs se trouvent sous les arbres ou au milieu des cultures destinées à être traitées, elles doivent être fauchées ou arrachées avant le traitement " stipule le texte. Sinon, " par dérogation " seuls peuvent être utilisés les insecticides et acaricides dont l'autorisation de vente porte les mentions suivantes " : " Emploi autorisé durant la floraison.... Etc " Chacun peut constater tous les jours que ce texte n'est pas appliqué sur le terrain. Il n'est même pas connu des agriculteurs qui s'imaginent souvent que le terme " floraison " signifie " pleine floraison ". Sur ce point précis, il n'y a quasiment pas d'information. En conséquence, un pourcentage considérable de traitements avec des produits reconnus dangereux, sont effectués en début ou fin de floraison. Il n'est pas suffisamment tenu compte non plus des adventices.

(2). L'utilisation des produits phytosanitaires en France s'est faite très progressivement. A l'origine dans les années 50, seul le bassin parisien était concerné, mais pour le Gers par exemple, les premiers traitements sont apparus à la

fin des années 60, pour n'atteindre un usage massif que 10 ans plus tard environ.

(3). Compte tenu de son importance, il convient de bien lever un malentendu..

Les conclusions des scientifiques suite au test inter laboratoire :

" il n'est plus question de mettre en cause les techniques analytiques "

sont surprenantes. En effet, jamais les apiculteurs n'ont contesté les techniques analytiques dans l'absolu, mais uniquement dans le cadre de la recherche de résidus sur abeilles mortes. Or, à l'évidence, tant que l'on n'aura pas remis en cause les techniques analytiques sur abeilles mortes, dont l'inefficacité est amplement démontrée, il ne sera pas possible d'avancer, et la situation sera bloquée

(4). A l'exception des semis, où, souvent, le Carbofuran était employé.

(5). Il convient de bien distinguer, les problèmes qui surviennent en saison, c'est à dire d'avril à juillet/août, dont l'origine est essentiellement toxicologique. Les pertes hors saison, c'est à dire de septembre à mars, même si la cause initiale résulte d'un empoisonnement antérieur (consommation de pollens contaminés en particulier), sont souvent aggravées par des problèmes pathologiques.

(6). Souvent qualifiées de " doses sub-létales ". Voilà un terme qui mériterait une définition beaucoup plus précise. Une dose " sub-létale " est une dose inférieure à celle qui fait mourir. Une dose qui provoque la mort de moins de 50% des insectes étudiés dans les 24 premières heures, est elle bien " sub-létale " ? ? ?

(7). Il faut le reconnaître aujourd'hui, tous ceux, et ils sont nombreux, qui n'adhéraient pas totalement à la thèse majoritaire sont restés silencieux par respect des personnes et du travail effectué. Cela n'est plus possible maintenant : " Il est des fois ou, se taire, c'est mentir " .