



## Les pesticides, le pollen et les abeilles

Marie-Pierre Chauzat, Jean-Paul Faucon, Anne-Claire Martel, Julie Lachaize,  
Nicolas Cougoule, Michel Aubert

### ► To cite this version:

Marie-Pierre Chauzat, Jean-Paul Faucon, Anne-Claire Martel, Julie Lachaize, Nicolas Cougoule, et al..  
Les pesticides, le pollen et les abeilles. *Phytoma la Défense des Végétaux*, 2006, 594. anses-03817989

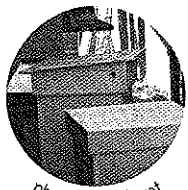
**HAL Id: anses-03817989**

**<https://anses.hal.science/anses-03817989>**

Submitted on 17 Oct 2022

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

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



# environnement

Étude durant un an sur des résidus de pesticides dans le pollen stocké dans des ruches

## Les pesticides, le pollen et les abeilles

Marie-Pierre Chauzat\*, Jean-Paul Faucon\*, Anne-Claire Martel\*, Julie Lachaize\*, Nicolas Cougoule\* et Michel Aubert\*

Pour étudier la présence des résidus de pesticides utilisés dans l'agriculture et surtout leur influence sur la santé des colonies d'abeilles, une étude de terrain pilotée par l'AFSSA Sophia Antipolis a débuté en 2002 en France. Elle se devait d'examiner le médiatique phénomène des mortalités brutales des colonies d'abeilles suite à leur exposition à des miellées ciblées. À notre connaissance, ce travail est le premier à rendre compte du taux de présence de pesticides dans des pelotes de pollen d'abeilles collectées pendant une année entière.



ph. AFSSA/Chauzat

Un des ruchers étudiés : c'est celui d'un apiculteur professionnel. Au contraire, celui que l'on aperçoit en médaillon en haut de cette page est proche de bâtiments et appartient à un amateur. L'AFSSA a recherché la diversité des situations.

Les pesticides ont été largement utilisés après la seconde guerre mondiale en débutant par l'usage des insecticides organochlorés contre les insectes. Avec environ 74 500 t de pesticides utilisés, la France est leur premier consommateur en Europe devant l'Allemagne, et le quatrième dans le monde derrière les USA, le Brésil et le Japon. Mais elle est placée à un rang moyen si on considère les doses utilisées (4 kg/ha cultivé) par rapport à des pays très utilisateurs type Pays-Bas (Devillers *et al.*, 2005). Pour chaque produit, les quantités totales dépendent de l'importance de la culture et des doses autorisées, qui vont de quelques grammes à plusieurs kg par hectare.

### Pourquoi étudier le pollen récolté

Depuis plusieurs années, la présence des résidus de pesticides dans l'eau, l'air et les aliments est étroitement étudiée à cause de

leur toxicité pour la santé humaine mais aussi du risque potentiel qu'ils représentent pour les équilibres écologiques.

L'utilisation de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) comme sentinelle de l'environnement a été décrite et discutée plusieurs fois lors de différentes études. L'efficacité de cet insecte en tant qu'outil écologique est basée sur ses caractéristiques biologi-

ques et éthologiques : un taux élevé de reproduction, une grande mobilité, une capacité à voler sur de grandes distances et à visiter de nombreuses fleurs en un seul jour. De plus, les colonies d'abeilles couvrent l'ensemble du territoire français et leur état est attentivement suivi par les apiculteurs.

Au point de vue scientifique, on peut citer les études ayant utilisé les abeilles domestiques pour suivre la présence dans l'environnement d'éléments radioactifs ou de métaux lourds. Plus originale, une étude italienne a montré qu'*A. mellifera* pouvait être utilisée avec succès pour détecter la présence de micro-organismes pathogènes pour les plantes (Porrini *et al.*, 2002).

L'examen des matrices apicoles (miel, cire, abeilles et pollen entre autres) peut renseigner utilement sur la présence des polluants dans l'environnement. Le miel étant un produit de consommation humaine, sa contamination par diverses molécules est largement étudiée dans

\* AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments). Les Templiers, 105, route des Chappes, BP III, 06902 Sophia-Antipolis Cedex. mp.chauzat@afssa.fr

différents pays. En France, un plan de surveillance nationale évalue tous les ans la contamination des miels par des molécules de synthèse et des métaux lourds. En 2003, sur les 117 miels analysés, des résidus dépassant le seuil maximal autorisé ont été trouvés dans 2,8 % d'entre eux. Il s'agissait de résidus d'antibiotiques (tétracyclines et sulfathiazole) et de métaux lourds (plomb et cadmium).

Bien que le pollen en pelote soit une denrée consommée par l'homme, à ce jour aucune législation n'est appliquée à ce produit. De ce fait, les données disponibles dans la littérature sur la pollution du pollen sont rares.

## Protocole d'étude

Vingt-cinq ruchers ont été choisis dans cinq départements [Eure, Yonne, Indre, Gers et Gard (Figure 1)] en fonction de leur environnement (zones de grandes cultures ou autres).

### Au niveau des ruchers

Dans chaque rucher, cinq colonies tirées au sort (125 colonies au total) ont été visitées quatre fois par an : avant l'hiver 2002, à la sortie de l'hiver, avant l'été, pendant l'été et enfin avant l'hiver 2003. Lors de ces visites, on a procédé à des observations cliniques.

Par ailleurs, deux colonies supplémentaires ont été choisies par rucher et équipées de trappes à pollen. Les apiculteurs devaient mettre en fonction les trappes quelques jours avant notre visite des colonies et récolter le pollen tous les deux jours. Les échantillons étaient immédiatement congelés et conservés ainsi jusqu'à leur analyse.

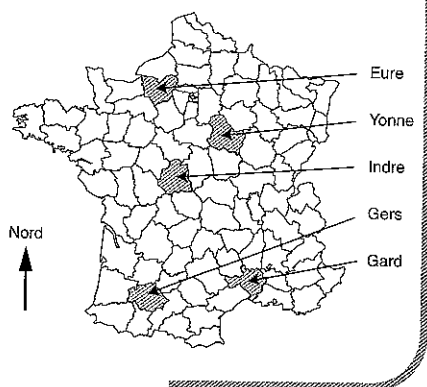
### Analyses réalisées

Les analyses ont été conduites dans deux laboratoires : à l'AFSSA Sophia Antipolis et au GIRPA (Groupe inter-régional sur les recherches des produits agropharmaceutiques) à Angers.

On a mené deux types d'analyses pour rechercher les résidus de 41 molécules différentes : des analyses multirésidus qui recherchent simultanément les résidus de plusieurs molécules dans un même échantillon, et des analyses spécifiques ne portant que sur une seule molécule. Le premier type d'analyse est

| Pesticides                 | Famille         | Utilisation | Statut | LD   | LQ        |
|----------------------------|-----------------|-------------|--------|------|-----------|
| Acide-6-chloronicotinique  | Métabolite      | I           | A      | 0,2  | 0,6       |
| Aldicarbe                  | Carbamate       | I, N        | A      | 5,0  | 10,0      |
| Aldicarbe sulfoxyde        | Métabolite      | SO          | SO     | 5,0  | 10,0      |
| Aldicarbe sulfone          | Métabolite      | SO          | SO     | 5,0  | 10,0      |
| Azinphos-méthyl            | Organophosphoré | I           | A      | 57,0 | 196,7     |
| Carbaryl                   | Carbamate       | I, RC       | A      | 5,0  | 10,0      |
| Carbofuran                 | Carbamate       | I           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Chlorpyrifos-éthyl         | Organophosphoré | I           | A      | 10,0 | 34,5      |
| Coumaphos                  | Organophosphoré | I, Ac       | In     | 37,0 | 142,6     |
| Cyfluthrine                | Pyréthriinoïde  | I           | A      | 7,0  | 98,7      |
| Cyperméthrine              | Pyréthriinoïde  | I           | A      | 3,8  | 93,3      |
| Cyproconazole              | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Deltaméthrine              | Pyréthriinoïde  | I           | A      | 0,1  | 29,9      |
| Diméthoate                 | Organophosphoré | I           | A      | 18,0 | 59,6      |
| Endosulfan                 | Organochloré    | I           | A      | 0,1  | 8,0       |
| Époxiconazole              | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Fénitrothion               | Organophosphoré | I           | A      | 19,0 | 66,9      |
| Fenthion                   | Organophosphoré | I           | A      | 8,0  | 30,6      |
| Fipronil                   | Phénylpyrazole  | I           | A      | 0,3  | 2,0 - 0,5 |
| Fipronil sulfone           | Métabolite      | SO          | A      | 0,3  | 2,0 - 0,5 |
| Fipronil désulfinyl        | Métabolite      | SO          | A      | 0,3  | 2,0 - 0,5 |
| Flusilazole                | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Hexaconazole               | Triazole        | F           | A      | 10,0 | 20,0      |
| Imidaclopride              | Néonicotinique  | I           | A      | 0,2  | 1,0       |
| Lindane                    | Organochloré    | I           | In     | 0,1  | 4,0       |
| Malathion                  | Organophosphoré | I           | A      | 9,0  | 31,5      |
| Mercaptodiméthur           | Carbamate       | I, M        | A      | 5,0  | 10,0      |
| Mercaptodiméthur sulfone   | Métabolite      | SO          | SO     | 5,0  | 10,0      |
| Mercaptodiméthur sulfoxyde | Métabolite      | SO          | SO     | 5,0  | 10,0      |
| Méthidathion               | Organophosphoré | I           | A      | 13,0 | 49,6      |
| Méthomyl                   | Carbamate       | Ac, I, M    | A      | 5,0  | 10,0      |
| Mévinphos                  | Organophosphoré | I           | A      | 3,8  | 27,7      |
| Myclobutanil               | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Oxamyl                     | Carbamate       | I           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Parathion éthyl            | Organophosphoré | I           | A      | 8,0  | 30,4      |
| Parathion méthyl           | Organophosphoré | I           | A      | 10,0 | 39,5      |
| Penconazole                | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Propiconazole              | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |
| Tau-fluvalinate            | Pyréthriinoïde  | I, Ac       | A      | 1,1  | 76,0      |
| Tébuconazole               | Triazole        | F           | A      | 10,0 | 20,0      |
| Tétraconazole              | Triazole        | F           | A      | 5,0  | 10,0      |

Figure 1  
Localisation et noms des départements français où étaient placés les ruchers étudiés.



moins sensible que le second mais il a l'avantage de permettre la recherche simultanée de plusieurs produits (36 dans nos analyses).

Elles ont été conduites sur un chromatographe à phase gazeuse en utilisant un détecteur à capture d'électrons pour les insecticides organochlorés et les pyréthriinoïdes de synthèse, et un détecteur azote-phosphore pour les insecticides organophosphorés.

La famille chimique des pesticides, leur statut légal d'utilisation et les organismes nuisibles ciblés sont détaillés dans le tableau 1, ainsi que les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) de ces analyses.

Le choix des substances actives recherchées a été guidé par leur toxicité vis-à-vis de l'abeille et/ou par leur large utilisation agricole. Les

limites de détection des molécules recherchées lors de l'analyse multirésidus ont été comprises entre 0,1 et 57 µg/kg, et les limites de quantification entre 4 et 196,7 µg/kg.

Les analyses spécifiques ont porté sur l'imidaclopride, le fipronil et trois de leurs métabolites (acide-6-chloronicotinique pour l'imidaclopride, dérivés sulfone et désulfinyl pour le fipronil). L'imidaclopride et ses métabolites ont été préalablement hydrolysés pour donner de l'acide-6-chloronicotinique. Les méthodes analytiques concernant les résidus de fipronil et de ses métabolites ont évolué en cours d'étude ; de ce fait, les limites de quantification ont diminué de 2,0 à 0,5 µg/kg.

**Tableau 2 - Fréquence des résidus dans les pelotes de pollen. Les pesticides sont classés par ordre décroissant de fréquence.**

| Pesticides                | Pourcentages (%) | Concentrations des résidus |             | Concentration moyenne (µg/kg) |
|---------------------------|------------------|----------------------------|-------------|-------------------------------|
|                           |                  | min (µg/kg)                | max (µg/kg) |                               |
| Imidaclopride             | 49,4             | >LD                        | 5,7         | 1,2                           |
| Acide-6-chloronicotinique | 44,4             | >LD                        | 9,3         | 1,2                           |
| Fipronil                  | 12,4             | >LD                        | <LQ         | 1,2                           |
| Fipronil désulfynil       | 11,1             | >LD                        | 1,5         | 1,3                           |
| Penconazole               | 10,3             | >LD                        | 126,0       | 27,6                          |
| Carbaryl                  | 8,3              | 126,0                      | 265,0       | 218,7                         |
| Endosulfan                | 6,1              | >LD                        | 340,0       | 81,2                          |
| Tau-fluvalinate           | 6,1              | >LD                        | 2020,0      | 487,2                         |
| Flusilazole               | 5,1              | >LD                        | 71,0        | 26,1                          |
| Parathion-méthyl          | 4,9              | >LD                        | <LQ         | 24,8                          |
| Carbofuran                | 3,8              | >LD                        | 10,9        | 14,0                          |
| Cyproconazole             | 3,8              | >LD                        | <LQ         | 7,5                           |
| Fipronil sulfone          | 3,7              | 1,7                        | 3,6         | 1,2                           |
| Myclobutanil              | 2,8              | >LD                        | 20,3        | 13,9                          |
| Coumaphos                 | 2,4              | 150,0                      | 1700,0      | 925,0                         |
| Oxamyl                    | 1,8              | 38,4                       | 38,4        | 38,4                          |
| Tébuconazole              | 1,3              | 12,3                       | 12,3        | 12,3                          |
| Hexaconazole              | 1,3              | 18,0                       | 18,0        | 18,0                          |
| Parathion-éthyl           | 1,2              | >LD                        | <LQ         | 19,2                          |

#### Calcul des fréquences et des teneurs

Dans le tableau 2, les pourcentages des pollens contenant des résidus ont été calculés en divisant le nombre d'échantillons positifs (dans lesquels des résidus du composé étudié ont été détectés) par le nombre total d'échantillons dans lesquels l'analyse a été conduite. Ce nombre total variait en fonction de la quantité de pollen récoltée à certaines saisons, qui parfois était trop faible pour permettre de réaliser l'ensemble des analyses sur un même échantillon. Dans ce tableau, les pesticides ont été classés en ordre décroissant selon leur fréquence d'apparition dans les échantillons.

La teneur moyenne a été calculée en utilisant la valeur de la médiane lorsque la quantité des résidus était trouvée entre la limite de détection et la limite de quantification. Par exemple, la LD du tau-fluvalinate étant de 1,1 µg/kg et sa LQ de 76 µg/kg, la médiane avait pour valeur 38,6 µg/kg.

Les tests statistiques (régression logistique) ont été conduits sur les fréquences de présence des résidus et non sur les teneurs des résidus.

### Les voies de contamination du pollen

Des résidus de 19 des 41 molécules recherchées ont été trouvés dans les pelotes de pollen. Les plus fréquents étaient l'imidaclopride (49,4 % des échantillons), l'acide-6-chloronicotinique (44,4 %) et le fipronil (12,4 %). La fréquence de présence des autres résidus (16 composés) variait de 11,1 % à 1,2 % (Tableau 2). La proportion des échantillons contenant au moins de l'imidaclopride ou de l'acide-6-chloronicotinique était de 69,1 %.

Sur les 101 échantillons de pollen analysés, 73 l'ont été pour la recherche de l'ensemble des 41 molécules. Seuls 9 de ces échantillons (12,3 %) ne contenaient aucun résidu détectable. Des résidus de un à cinq composés différents ont été retrouvés dans les pelotes de pollen. La pollution la plus fréquente correspondait à la présence d'un seul résidu (31,5 %). Un seul échantillon contenait cinq résidus à la fois.

Parmi les 19 substances trouvées dans les pelotes, la source phytosanitaire peut probablement expliquer la présence des 17 dont les doses sont inférieures à 0,4 milligramme/kg (0,4 mg/kg, soit 400 µg/kg, microgrammes/kilogramme).

Les résidus de deux autres pesticides, le coumaphos et le tau-fluvalinate, ont été quantifiés à la hauteur du mg/kg, ce qui représente

une teneur 1 000 fois supérieure à l'unité utilisée pour l'expression des LD et LQ, le µg/kg. Il est intéressant de noter que ces acaricides sont utilisés pour le traitement de *Varroa destructor*, acarien parasite des abeilles qui ravage les colonies françaises depuis les années 80.

Les deux échantillons contenant le coumaphos provenaient de ruchers dont l'apiculteur avait mentionné son utilisation pour le traitement de la varroase. Il est probable que l'acaricide a été introduit dans les pelotes via les abeilles. Il est connu que les butineuses utilisent le nectar et/ou le miel pour agglomérer les grains de pollen afin de former les pelotes. La quantité de sucres ajoutés est variable et peut représenter jusqu'à 40 % du poids sec de la pelote de pollen (Roulston and Cane, 2000). Cependant, ce moyen de contamination ne permet pas d'expliquer totalement les teneurs anormalement élevées de cet acaricide dans le pollen.

Bien que l'autre acaricide, le tau-fluvalinate, soit encore utilisé en apiculture malgré la mise en évidence de résistances de l'acarien à cette substance, aucun des participants à l'étude n'a rapporté son usage pour lutter contre la varroase. Le scénario de contamination des pelotes via les abeilles n'explique probablement pas la présence de résidus de tau-fluvalinate dans le pollen. Le tau-fluvalinate était utilisé en protection des plantes en 2003 (il l'est toujours) : la source phytosanitaire peut donc expliquer la présence de résidus, mais nous ne savons pas si elle peut expliquer totalement les taux les plus élevés.

### Résidus dans le pollen : quand, où, à quelle teneur ?

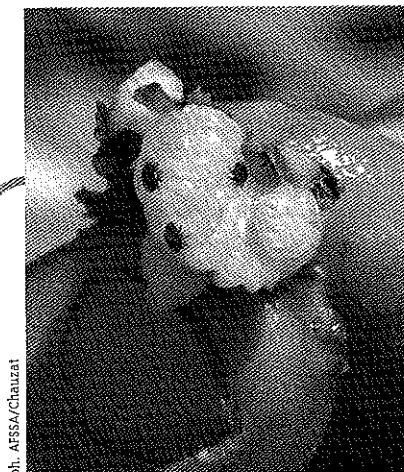
La figure 2 représente la fréquence des résidus dans le pollen en fonction du temps.

#### Fipronil et métabolites

81 échantillons de pelotes ont été analysés pour la recherche de fipronil et de ses métabolites. Un pic dans la fréquence de résidus de fipronil (et/ou de ses métabolites) dans les pelotes de pollen a été observé dans les échantillons collectés en mars-avril 2003. La matière active fipronil n'a jamais été quantifiée (teneurs jamais supérieures à la LQ). Le composé sulfone a été quantifié trois fois (1,7 ; 3,3 et 3,7 µg/kg), le composé désulfynil une fois (1,5 µg/kg).

#### Imidaclopride et métabolite

L'imidaclopride et l'acide-6-chloronicotinique ont été cherchés sur ces mêmes échantillons. Dans 56 d'entre eux, on a trouvé des résidus d'au moins une de ces deux molécules. Ces échantillons positifs ont été collectés de façon égale durant toute l'année (Figure 2b). L'imidaclopride a été quantifié dans 11 échantillons (les teneurs variaient de 1,1 à 5,7 µg/kg), l'acide-6-chloronicotinique dans 28 échantillons (les teneurs variaient de 0,6 à 9,3 µg/kg).



ph. AFSSA/Chauzat

**Varroa adultes sur une larve de faux-bourdon. On voit qu'il s'agit d'arthropodes (précisément des acarides). Ils posent un grave problème à l'apiculture.**

### 14 autres substances, quelles doses

Concernant les autres pesticides, les fréquences de présence dans les pelotes variaient de 50 %, pour les échantillons collectés en mars-avril 2003 et en mai-juin 2003, à 0 % pour les échantillons collectés en novembre 2002.

Dans notre étude, les résidus des pesticides ont été mis en évidence à des teneurs plus faibles que celles reportées dans la littérature. Par exemple, la teneur moyenne en parathion méthyl a été de 24,8 µg/kg. Par comparaison, en 1982, une étude portant sur les résidus de parathion méthyl réalisée en France sur le pollen de trappe avait montré des teneurs variant de 1 700 à 17 800 µg/kg (Faucon *et al.*, 1986). Au cours d'une autre expérimentation de terrain, aux États-Unis, du pollen a été récolté à l'aide de trappes en 1984. Les teneurs de parathion-méthyl dans les pelotes étaient comprises entre 40 et 1 940 µg/kg. Lors de cette dernière expérimentation, il n'a pas été repor-

té de mortalité anormale d'abeilles adultes, de problème de reine ni de développement inhabituel du couvain (Waller *et al.*, 1984).

### Ceux qui n'ont pas été trouvés

Aucun résidu des 22 autres pesticides recherchés dans cette étude n'a été trouvé dans les pelotes de pollen. Cependant, des références dans la littérature mentionnent la possibilité de trouver des traces de ces substances dans l'environnement. En Suède, lors d'une expérimentation, on a montré que des résidus de cyperméthrine et de lambda-cyhalothrine variaient entre 70 et 1 900 µg/kg dans du pollen de trappe. Les taux de résidus étaient élevés le jour du traitement et décroissaient rapidement au cours des jours suivants. Dans notre étude, l'absence de résidus de cyperméthrine dans les pelotes de pollen pourrait s'expliquer par sa faible persistance dans l'environnement.

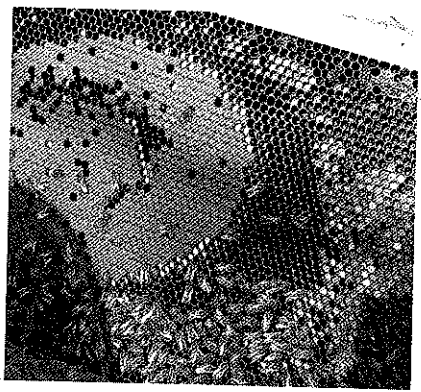
### Rappel historique pour mieux comprendre

Des méthodes d'application plus ciblées, la plus grande spécificité des matières actives et les nouvelles préparations commerciales actives à plus faibles doses expliquent les diminutions des teneurs des résidus que nous observons. Une gestion moderne des nuisibles doit trouver un équilibre entre l'optimisation de l'efficacité des insecticides et la réduction des pertes des matières actives. Cet idéal peut être atteint en intégrant différentes tactiques telles que le choix de l'insecticide et de sa concentration, son mode d'application et la période à laquelle il est utilisé.

Pendant les années 70 et 80, de nouvelles techniques ont été développées concernant le traitement des ravageurs. Force est de constater que les nouveaux insecticides développés ont une meilleure action potentielle : leur toxicité à l'égard des organismes cibles, due à leur mode d'action plus spécifique, a augmenté. De ce fait, ils sont utilisés en moins grande quantité par hectare. Leurs résidus étant plus faibles, théoriquement ils devraient être éliminés plus facilement. Mais l'exemple de la production d'insecticides micro-encapsulés montre que le but recherché n'est pas toujours atteint.

Cette technique avait été présentée comme un moyen de réduire les pertes de colonies d'abeilles dues à la dérive des insecticides appliqués par pulvérisation. Mais, à l'occasion du suivi post-homologation, on a constaté que les micro-capsules étaient considérées comme des grains de pollen par les abeilles. Les colonies d'abeilles n'étaient donc plus exposées au pesticide à travers la dérive, mais par le biais du stockage dans la ruche avec les pelotes de pollen. Pour réduire ce désavantage, il a été proposé d'ajouter un adjuvant collant les micro-capsules à leur support, ne permettant plus leur récolte par les insectes non cibles (Dahl and Lowell, 1984).

Plus tard, les insecticides systémiques utilisés en enrobage de semences ont été présentés comme la solution aux problèmes de pulvérisation à la condition que les abeilles ne soient



ph. AFSSA/Chauzat

Cadre de couvain d'abeille au printemps. La distribution du pain d'abeille autour des larves est typique d'une bonne répartition.

pas exposées de manière significative à la matière active ou ses métabolites par le nectar ou le pollen. La controverse liée à l'emploi du *Gaucho* en enrobage de graines de tournesol a prouvé que la réalité était plus complexe.

En France, le fipronil a été accusé par les apiculteurs d'être responsable de la perte de nombreuses colonies d'abeilles. Cet insecticide a été largement utilisé pour le traitement des semences de tournesol parce qu'il protège efficacement les graines puis les plantules. Cette propriété est peut-être le fruit de l'action combinée de la molécule mère et de son métabolite, le composé sulfone, qui a une action insecticide potentiellement similaire à celle du fipronil. Un autre facteur pourrait être la présence du photoproduit (le composé désulfenyl) dont la toxicité à l'égard des mouches et des souris est similaire à celle du fipronil (Hainzl and Casida, 1996). En étudiant la présence de ces trois composés, nos résultats suggèrent que les résidus du parent (le fipronil) sont les plus fréquents dans les pelotes de pollen.

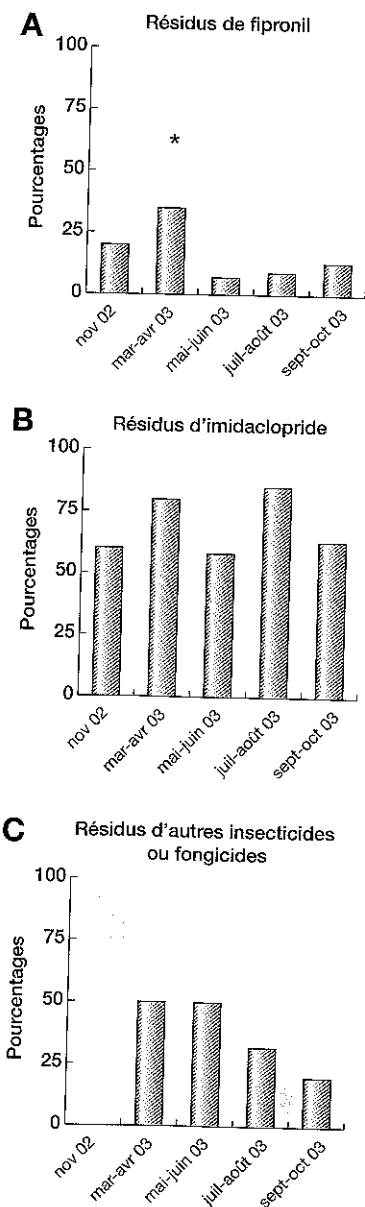
### Quelle toxicité pour l'abeille ?

Le danger posé par les pesticides aux abeilles est le résultat de l'exposition et de la toxicité. Le temps d'exposition (= exposition chronique ou aiguë) et le stade de développement des individus exposés (= adultes, couvain) jouent également un grand rôle dans l'effet des pesticides sur une colonie d'abeilles.

Il est intéressant de constater que les résidus les plus fréquemment trouvés sont ceux pour lesquels les LD sont très basses. La LD de l'imidaclopride et de l'acide-6-chloronicotinique est de 0,2 µg/kg, celle du fipronil de 0,3 µg/kg. Ces valeurs très basses sont décelées grâce aux analyses spécifiques conduites pour la recherche de ces molécules. Si les limites de détection des 41 pesticides avaient été aussi basses que celles citées plus haut, il est fort à parier que les fréquences de résidus en auraient été largement augmentées. En d'autres termes, plus on cherche et de manière fine, plus on trouve.

Figure 2

Fréquences (%) des résidus de (A) : fipronil ; (B) : imidaclopride ; (C) : autres pesticides dans les pelotes de pollen ; \* : différence significative statistiquement.



**Tableau 3 - Toxicité aiguë des pesticides pour le couvain et les abeilles adultes.**  
 Les DL50 du couvain sont exprimées en µg/larve, les DL50 adultes en µg/abeille (NT : non toxique, ND : non disponible). Pour les adultes, le mode d'administration du pesticide est mentionné par C pour contact, O pour oral et I pour ignoré (So : sans objet).

| Insecticides        | DL50 sur couvain | DL50 sur adultes       | Administration |
|---------------------|------------------|------------------------|----------------|
| Aldicarbe           | 0,356            | 0,272                  | I              |
| Aldicarbe sulfoxide | 0,854            | 2,211                  | I              |
| Aldicarbe sulfone   | 1,067            | 399,3                  | I              |
| Azinphos-méthyl     | ND               | NT<br>0,428            | So<br>I        |
| Carbaryl            | 1,212            | 1,34                   | I              |
| Carbofuran          | ND               | 0,16                   | I              |
| Chlorpyrifos-éthyl  | ND               | 0,11                   | I              |
| Coumaphos           | ND               | 3-6                    | O              |
| Cyperméthrine       | 0,066            | 0,060                  | I              |
| Deltaméthrine       | ND               | 0,7                    | O              |
| Diméthoate          | ND               | 0,18-0,90              | I              |
| Endosulfan          | 28,142           | 21,79                  | I              |
| Fénitrothion        | ND               | 0,28                   | I              |
| Fenthion            | ND               | 0,30                   | I              |
| Fipronil            | ND               | 0,004<br>0,006         | O<br>C         |
| Imidaclopride       | ND               | 0,0179<br>0,04 - 0,01  | C<br>O         |
| Malathion           | 0,736            | 0,726                  | I              |
| Méthidathion        | 0,274            | 0,237                  | I              |
| Méthomyl            | 0,539            | 1,29                   | I              |
| Mévinphos           | 0,441            | 0,305                  | I              |
| Oxamyl              | 0,367            | 10,26                  | I              |
| Parathion éthyl     | ND               | 0,07-0,10<br>0,09-0,13 | C<br>O         |
| Parathion méthyl    | ND               | 0,29                   | I              |
| Tau-fluvalinate     | ND               | 65,85                  | I              |
| Tébuconazole        | ND               | 97-175,8               | C              |

#### Stockage et exposition chronique

Aucune mortalité forte d'abeilles (= intoxication aiguë) n'a été enregistrée au cours de cette étude. Cependant, la présence des divers résidus de pesticides dans les pelotes de pollen montre que les colonies d'abeilles ont été exposées à des polluants de manière chronique (sur les 73 échantillons analysés pour la recherche de l'ensemble des pesticides, seuls 9 ne contenaient aucun résidu).

Les abeilles stockent les pelotes de pollen dans la ruche sous forme de pain d'abeille. Celui-ci est un mélange de pollen et de miel auquel s'ajoutent de nombreuses enzymes. Les abeilles adultes et le couvain sont nourris directement ou indirectement (à travers la gelée royale sécrétée par les glandes hypopharyngiennes) avec du pain d'abeille. Ces populations peuvent donc être exposées aux résidus de pesticides durant des périodes variables.

On n'a que peu de données sur le devenir de ces produits lorsqu'ils sont stockés dans la ruche sous cette forme : à quelle vitesse sont-ils métabolisés et selon quels processus ? De même, aucune donnée n'est disponible sur les possibles interactions entre les molécules présentes simultanément dans le pollen ou dans le pain d'abeille. Par exemple dans notre étude, des résidus de fongicides et de pyréthrénoïdes ont été trouvés dans un même

échantillon. Or on sait que cette association peut augmenter la toxicité de chaque matière active pour les abeilles si les molécules sont appliquées simultanément en pulvérisation. Une augmentation de toxicité similaire dans le pollen ou le pain d'abeille est-elle possible ? Beaucoup d'équipes ont travaillé sur la quantité de pollen dont une larve a besoin pour son développement. Cette quantité dépend principalement des saisons, de la variété de pollen et des conditions dans lesquelles les larves sont élevées. Plusieurs chiffres sont cités dans la bibliographie : pour son développement complet, une larve de butineuse a besoin de 86 mg de pollen de maïs selon Babendreier *et al.*, (2004) ou de 145 mg de pollen selon d'autres auteurs qui ne mentionnent pas l'espèce florale (Winston, 1993).

Par ailleurs, on sait que l'apport de pollen influence la résistance des abeilles aux pesticides. La diversité pollinique ainsi que la quantité de pollen ingérée par la larve lors de ses premiers jours de développement affectent plus tard la sensibilité aux pesticides des butineuses issues de ces larves (Wahl and Ulm, 1983).

À noter : les pesticides présents le plus fréquemment dans les échantillons de pollen n'étaient pas ceux ayant les plus fortes concentrations moyennes. On peut donner l'exemple de l'imidaclopride présent dans presque la moitié des échantillons de pollen

(49,4 %) à une concentration moyenne de 1,2 µg/kg. À l'opposé, seuls trois échantillons contenaient des résidus de carbaryl, mais à une concentration moyenne de 218,7 µg/kg.

#### Toxicité, ce qu'on peut calculer

Il est important de compléter ces observations par la toxicité intrinsèque des substances actives. La toxicité aiguë d'une molécule est mesurée par la dose létale 50 (DL 50) orale ou de contact. Il est connu que ces valeurs sont extrêmement dépendantes de la température, des substances actives, des races d'abeilles et de l'âge des individus testés.

Les DL 50 des molécules concernées par notre étude et disponibles dans la littérature ont été rassemblées dans le tableau 3. Il est heureux de constater que les résidus trouvés aux plus fortes concentrations ont des DL 50 élevées.

Cependant, la question à laquelle tout le monde souhaite une réponse reste : des pesticides sont présents dans les pelotes de pollen à certaines teneurs, ces quantités sont-elles dangereuses pour les abeilles ?

Prenons le cas de l'imidaclopride. Il serait intéressant de savoir combien de pollen contaminé doit consommer une abeille pour ingérer la quantité d'imidaclopride nécessaire pour atteindre la DL 50. Si on prend en compte la teneur moyenne trouvée dans cette étude (1,2 µg/kg), c'est de 8 à 33 g de pollen qu'un seul individu doit consommer. Ce dernier chiffre est à comparer avec la consommation de pollen pour l'élevage d'une larve, citée plus haut. Il est évident que cette quantité ne sera pas atteinte en quelques jours et que le pollen devra être stocké dans la ruche.

On en revient donc au problème du manque de connaissance sur la stabilité et le devenir des molécules actives au sein de la ruche.

#### Très petite dose, longue exposition : effets mal connus

De plus, on a montré que de très petites quantités de molécules actives pouvaient avoir des effets délétères sur la physiologie et le comportement des abeilles. Ces effets sont difficiles à détecter. Lors d'études sur la toxicité

Un autre rucher étudié. On connaît la présence de résidus de pesticides et la variabilité des quantités. Il reste à évaluer leur dangerosité.



ph. AFSSA/Chauzat

té chronique, il a été montré que l'imidaclopride provoquait un effet sur les abeilles à des doses très faibles : ces doses étaient de 60 à 60 000 fois inférieures à celles nécessaires pour produire le même effet lors d'intoxications aiguës. Le même type de réponse a été enregistré pour le fipronil. Des effets sur l'apprentissage ont été remarqués lorsque les abeilles avaient ingéré des doses faibles : 0,075 et 0,15 ng (nanogramme) de fipronil par abeille et par jour, soit la DL 50 divisée par 80 et par 40, respectivement.

Si les effets enregistrés sur chaque individu sont additionnés, on peut s'attendre à ce que la colonie dans sa globalité soit affectée par l'ingestion de très faibles doses. Cependant, les conséquences sur les colonies de l'ingestion de ces très faibles doses sont encore mal connues et mal quantifiées.

## En conclusion

Cette étude a montré la présence de résidus d'un grand nombre de pesticides dans les pelotes de pollen collectées par les abeilles domestiques. Ces résidus ont été trouvés à des concentrations moyennes très variables qui vont de l'état de traces à des centaines de microgrammes par kilogramme.

Cette pollution a été mise en évidence au cours d'une année entière, aucune saison n'étant plus représentée qu'une autre à l'exception des résidus de fipronil dont la fréquence observait un pic aux mois de mars et avril.

Les abeilles sont exposées à ces molécules par contact dans la colonie et potentiellement par l'ingestion du pain d'abeille. Cependant, plus de données sont nécessaires pour évaluer la dangerosité de ces résidus sur les colonies d'abeilles : données sur la présence des pesticides dans les colonies, dans le pain d'abeille et dans les larves. Des données sur la conséquence de l'exposition chronique des abeilles à une molécule ou à une association de molécules sont également nécessaires.

Une des questions les plus difficiles pour la recherche en apidologie est de développer de nouvelles techniques permettant d'évaluer sur le terrain l'effet de la pollution par les pesticides sur les abeilles adultes. Le meilleur moyen pour évaluer cette exposition serait de travailler sur des colonies entières, mais cette solution expérimentale n'est pas encore disponible. À l'heure actuelle, et dans l'état de nos connaissances, il est difficile de décrire l'impact sur les abeilles des pesticides stockés dans la ruche par l'intermédiaire des pelotes de pollen.

**Remerciements :** Nous souhaitons remercier l'ensemble des apiculteurs qui ont mis à disposition leurs ruches pour cette étude. Sans leur assistance et leur bonne volonté, cette étude n'aurait pas pu voir le jour. Un grand merci également à nos collègues de la direction des Services Vétérinaires pour leur aide matérielle. Ce projet a été financé pour partie par des fonds FEOGA de la communauté Européenne.

## Bibliographie

- Babendreier D., N. Kalberer, J. Romeis, P. Fluri, and F. Bigler, 2004 - Pollen consumption in honey bee larvae: a step forward in the risk assessment of transgenic plants. *Apidologie* 35:293-300.
- Chauzat M.-P., Faucon J.-P., Martel A.-C., Lachaize J., Gougoule N. and Aubert M., 2006 - A survey of pesticides residues in pollen loads collected by honey-bees (*Apis mellifera*) in France. *Journal of Economic Entomology* 99 (2) : 253-262.
- Dahl G. H. and J. R. Lowell, 1984 - Microencapsulated pesticides and their effects on non-target insects. *ACS Symposium Series* 254:141-150.
- Devillers, J., R. Farret, P. Girardin, J. L. Rivière, and G. Soulas, 2005 - Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides. Tec & Doc, Paris.
- Faucon J. P., C. Flamini, and M. E. Colin, 1986 - Évaluation de l'incidence de la deltaméthrine sur les problèmes de cheptel apicole. Chapitre 4. Abeille de France 182-184.
- Hainzl D. and J. E. Casida, 1996 - Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93:12764-12767.
- Porrini, C., S. Ghini, S. Girotti, A. G. Sabatini, E. Gattavecchia, and R. Celli, 2002 - Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy, pp. 187-247. In J. Devillers and M. H. Pham-Delègue [eds.], *Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals*. Taylor & Francis, London.
- Roulston, T. H. and J. H. Cane, 2000 - Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Syst. Evol.* 222:187-209.
- Wahl, O. and K. Ulm, 1983 - Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59:106-128.
- Waller, G. D., B. J. Erickson, J. Harvey, and T. I. Archer, 1984 - Comparison of honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) losses from two formulations of methyl parathion applied to sunflowers. *J. Econ. Entomol.* 77:230-233.
- Winston M. L., 1993 - La biologie de l'abeille. Beauchevain, Belgium.

## Résumé

Une étude de la contamination de pelotes de pollen stockées dans des ruches d'abeilles domestiques a été menée sur une année complète (automne 2002 à automne 2003), sur 125 ruches réparties dans 25 ruchers de 5 départements français.

41 molécules ont été recherchées, par des analyses multirésidus ou spécifiques.

19 d'entre elles ont été trouvées (fréquence et doses dans l'article).

Les plus souvent trouvées (imidaclopride, fipronil et deux métabolites, qui sont parmi celles pour lesquelles les limites de quantification (LQ) et de détection (LD) étaient les plus faibles), le sont à des concentrations moyennes et maximales faibles. Les résidus dont les teneurs étaient les plus élevées (coumaphos et tau-fluvalinate) ne sont pas trouvés fréquemment.

Globalement, les concentrations sont en baisse par rapport à celles trouvées dans des études antérieures, et bien inférieures à celles connues pour provoquer des mortalités aiguës. Du reste les ruches, suivies en parallèle, n'ont pas montré de troubles aigus. Mais il reste à étudier, d'une part le devenir des molécules dans les colonies à plus long terme, d'autre part les effets physiologiques et comportementaux éventuels de très petites doses lors d'expositions chroniques.

**Mots-clés :** abeille domestique, *Apis mellifera*, pelotes de pollen, pesticides, résidus,

fréquence, teneur, contamination, toxicité, exposition, environnement.

## Summary

### PESTICIDES, POLLEN AND HONEY BEES

In 2002 a field survey has been initiated on French apiaries in order to monitor weakness of honey bee colonies (*Apis mellifera* L.). Studied apiaries were evenly distributed in five sites located on continental France. Five colonies were randomly selected in each apiary leading to a total of 125 studied honey-bees colonies. For three years (starting in autumn 2002) colonies were visited four times per year: after wintering, before summer, during summer and before wintering. Pollen loads from traps were collected at each visit.

Multiresidue analyses were performed in pollen to search residues of 36 different molecules. Specific analyses were conducted to search fipronil and metabolites and also imidaclopride and metabolites. Residues of 19 searched compounds were found in samples. Rates of contamination by pesticides ranged from 50% to zero. Coumaphos and tau-fluvalinate residues were the most concentrated of all residues (mean concentrations were 925.0 and 487.2 µg/kg, respectively). Fipronil and/or metabolite contents were superior to the limit of detection in 16 samples. Residues of fipronil were found in 10 samples. Nine samples contained the sulfon compound and 3 the desulfinyl compound. Residues of imidacloprid and/or 6-chloronicotinic acid were found in 69% of samples. Imidacloprid contents were quantified in 11 samples with values ranging from 1.1 to 5.7 µg/kg. 6-chloronicotinic acid contents were superior to the limit of quantification in 28 samples with values ranging from 0.6 to 9.3 µg/kg. Statistical tests showed no difference between places of sampling with the exception of fipronil. Possible origins of these contaminations, concentration and toxicity of pesticides as well as the possible consequences for bees are discussed.