

CIAg Abeilles

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

Luc Belzunces, INRA PACA Avignon

► Mardi 15 novembre 2016



Evaluation des effets des pesticides chez l'abeille

Contexte de l'évaluation de la toxicité des pesticides pour l'abeille

Cadre réglementaire

Règlement 1107/2009/CE relatif à la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques

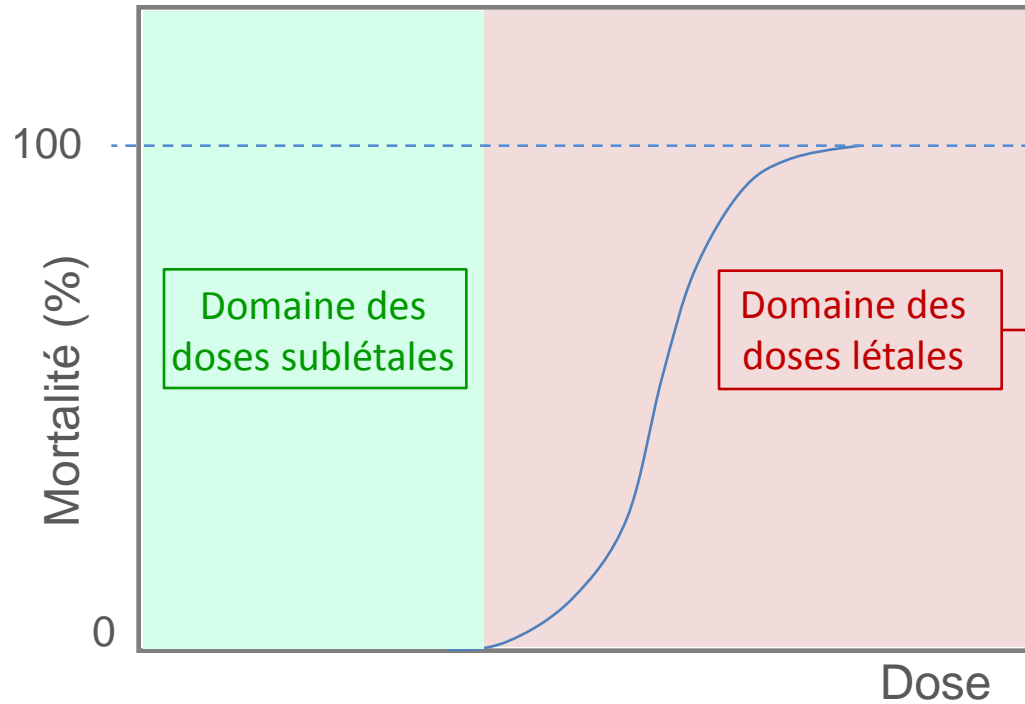
→ Etudes toxicologiques a priori

Cadre académique

- Développement d'études toxicologiques
- Développement de nouvelles méthodes toxicologiques
- Veille toxicologique

→ Etudes a posteriori

La toxicité des pesticides



La relation dose-mortalité



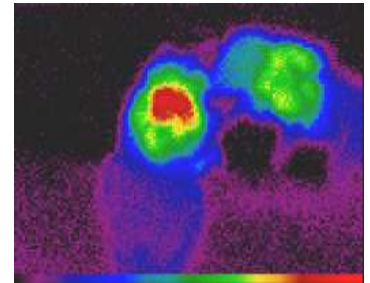
Les effets sublétaux des pesticides

Le domaine de doses sublétales

- Les pesticides peuvent induire des effets non mortels
- Les effets peuvent être délétères
- Les effets peuvent compromettre la survie des individus ou des populations
- Les effets sont variés : → Comportement, mémoire, thermorégulation...

Méthodes d'évaluation des effets sublétaux

- Il n'existe que peu de méthodes d'exploration des effets sublétaux
- Les méthodes nécessitent une validation pour leur standardisation



Deux cas illustratifs de recherches innovantes sur les effets sublétaux délétères des pesticides chez l'abeille

Unité de Recherche Abeilles & Environnement

Unité Mixte Technologique PrADE

- Développement d'outils in vitro prédictif de la neurotoxicité des pesticides pour l'abeille
- Toxicité des pesticides pour la reproduction des abeilles

Evaluation de la neurotoxicité sublétales des pesticides

Approches neurocomportementale et physiologique

Programme de recherche BEE-CHANNELS

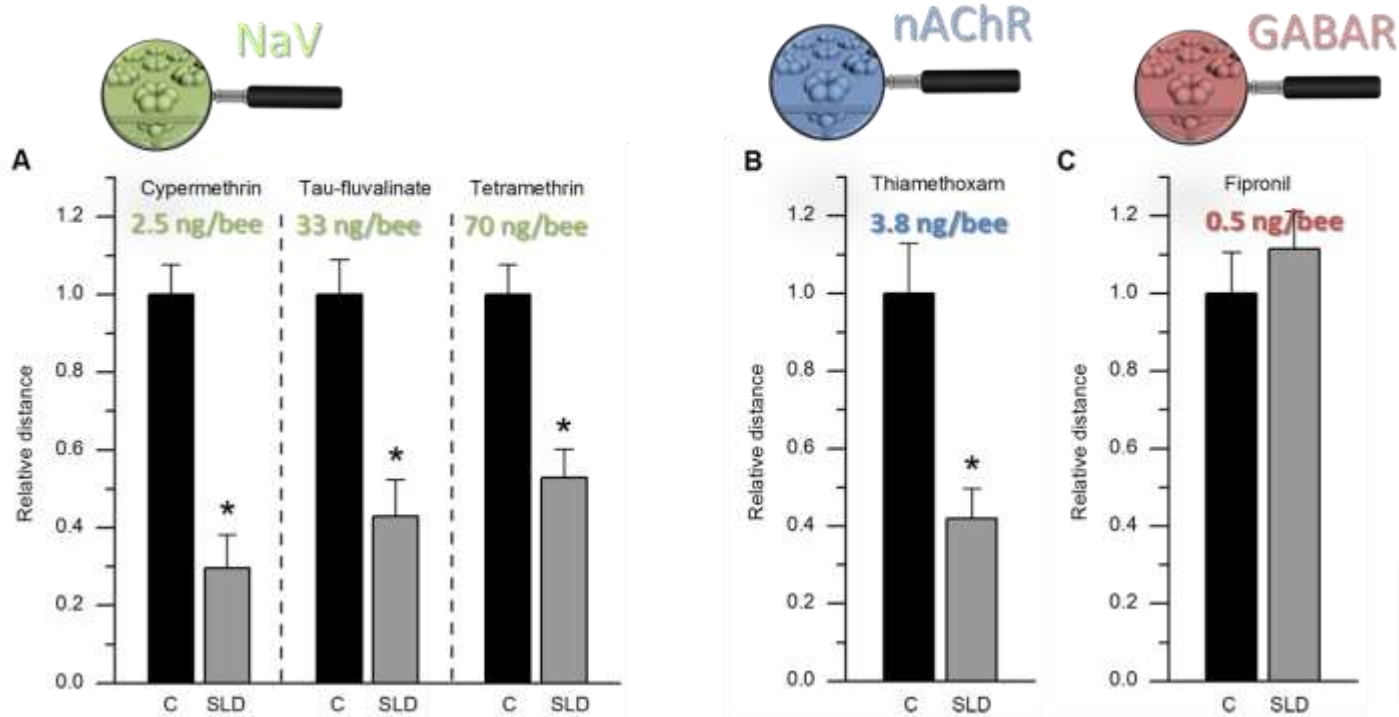
Soutenu par l'Agence Nationale de la Recherche 

Sensibilité des canaux sodiques et calciques de l'abeille envers les pyréthriinoïdes : aspects moléculaires et conséquences sur le comportement de butinage

Responsable de la partie toxico-physiologie:

Claude COLLET,
UR Abeilles & Environnement
Laboratoire de Toxicologie Environnementale
INRA PACA Avignon

Des doses sublétales de pyréthréinoïdes et d'un néonicotinoïde altèrent la locomotion de l'abeille



Publication

Charreton et al 2015

PLoS One 10(12): e0144879

Un autre moyen pour évaluer la sécurité des pesticides

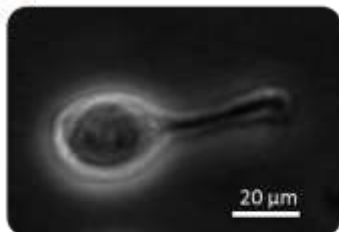
L'évaluation *in vitro*

Principe des 3 R en expérimentation animale : Raffiner, Réduire, Remplacer

e.g. en pharmacologie humaine moderne : le test de sécurité cardiaque hERG

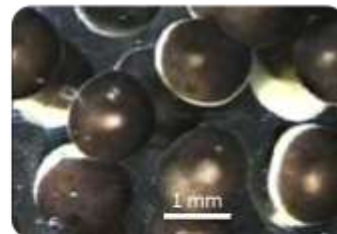
Permet de mesurer le potentiel cardiotoxique de futurs médicaments

Canaux sodium *in situ*
Neurones d'abeille



Kadala et al 2014, Collet et al 2016

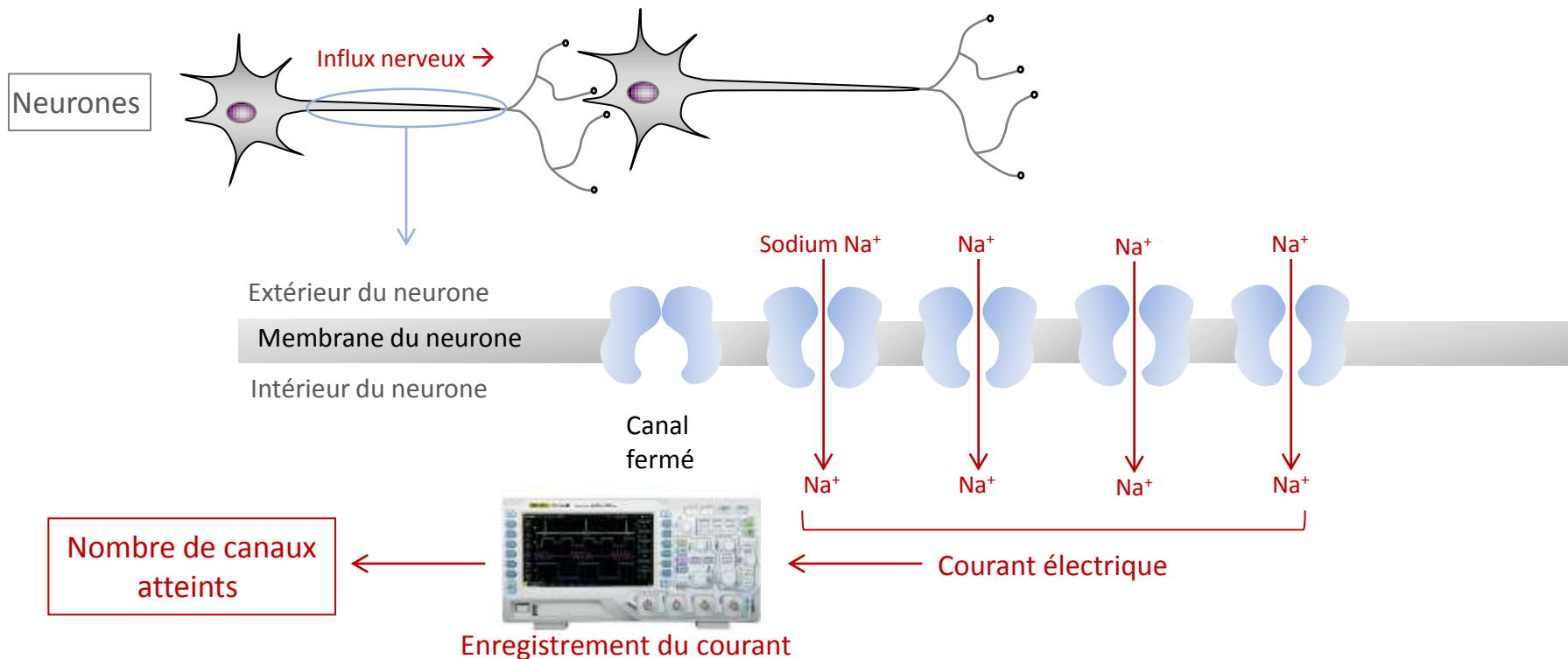
Canaux sodium exprimés
dans des ovocytes de *Xenopus*



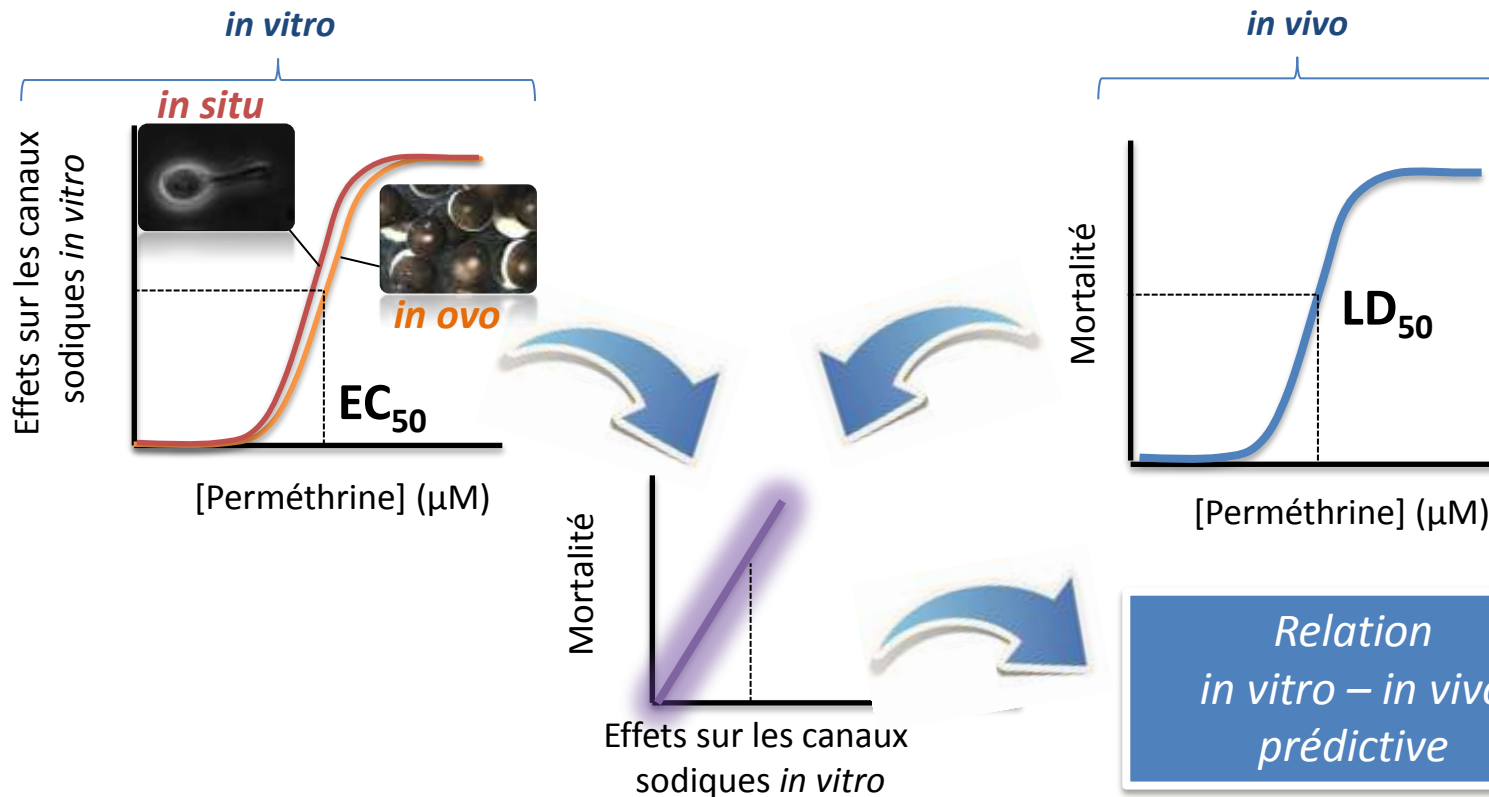
Gosselin et al 2015



Principe de l'évaluation in vitro de la neurotoxicité



Les effets *in vitro* sont-ils prédictifs des effets *in vivo* ?



Evaluation de la toxicité des pesticides pour la reproduction des abeilles

Programme de recherche FEAGA

Soutenu par France AgriMer



Fertilité des mâles chez l'abeille : Evaluation de la qualité des semences selon l'âge, leur origine génétique et influence de stressseurs sur la qualité du sperme en relation avec la fécondité et la longévité des reines chez l'abeille

Coordinateur du projet :

Jean-Luc BRUNET

UR Abeilles & Environnement

Laboratoire de Toxicologie Environnementale

INRA PACA Avignon

Doctorant :

Guillaume KAIRO

Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité : Contexte & Problématique 1/2

Contexte général

- Déclin des colonies d'abeilles : Phénomène complexe et multicausal (Neumann and Carreck, 2010 ; Ratnieks 2010 ; Goulson, 2015)
- Pertes hivernales ou **CCD** en augmentation

Causes suspectées

(Vanengelsdorp et al., 2008 ; Brodschneider et al., 2010 ; Genersch et al., 2010)

- Ressources alimentaires & Famine
- Parasites
- Polluants Environnementaux
- Climat
- **Qualité des reines**

Constat particulier : Appauvrissement de la qualité des reines

Camazine et al., 1998 ; Rhodes et al., 2004 ; vanEngelsdorp and Meixner, 2010 ; Tarpy et al., 2012

- Couvain en mosaïques
- Reines précocement bourdonneuses
- Supersédures prématurées

⇒ Symptômes révélateurs d'une atteinte de la fonction de reproduction ?



Honey bee colony losses
(Neumann and Carreck 2010)



Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité

Contexte & Problématique 2/2

Deux stressseurs connus depuis longtemps pour leurs effets préjudiciables sur la reproduction

- **Les pesticides**

Pollutions des milieux et des aliments

- **Les agents pathogènes et parasites**

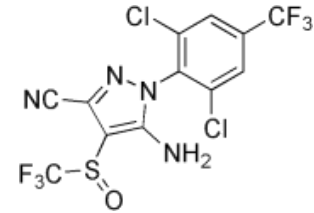
⇒ **Altération des fonctions reproductrices**

Hypothèses

- Effets direct de stressseurs environnementaux sur la fertilité des reines → ↓ longévité

- Effets des stressseurs sur la qualité sperme → ↓ fécondité reine → ↓ longévité

⇒ **Qualité du sperme essentielle pour la fécondité et donc le développement de la colonie**



Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité : Approche Expérimentale 1/3

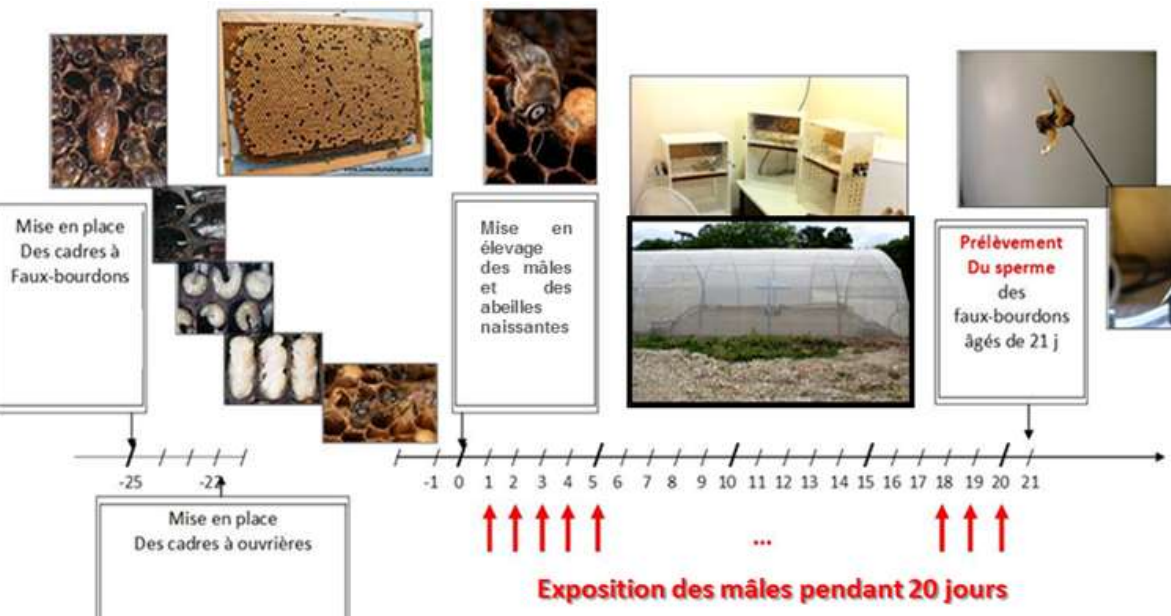
A. Elevage de faux-bourçons

- En conditions semi-contrôlées
- En conditions contrôlées

Apidologie
© INRA, DIB and Springer-Verlag France, 2013
DOI: 10.1007/s13592-013-0240-7

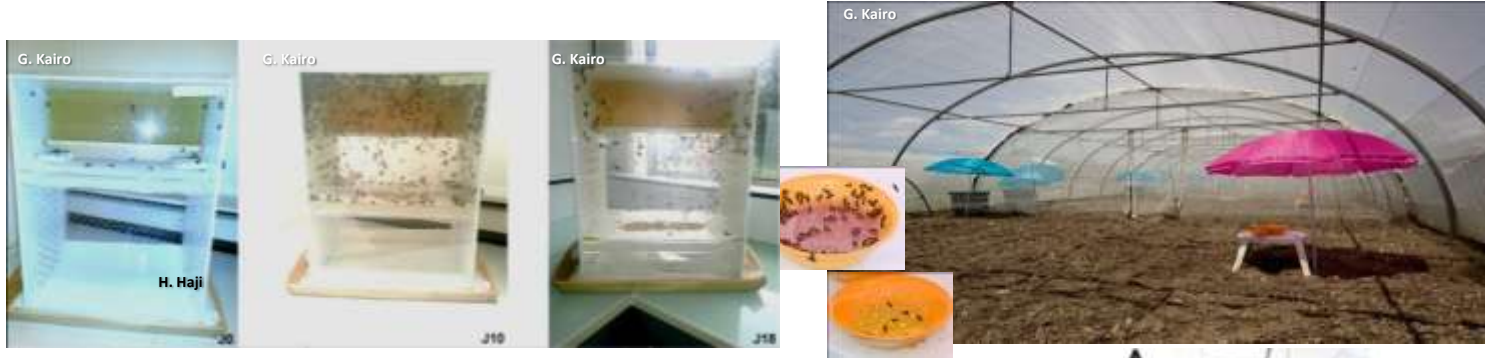
Semen quality of honey bee drones maintained from emergence to sexual maturity under laboratory, semi-field and field conditions

Faten Ben ABERKADER^{1,2}, Guillaume KABRO¹, Sylvie TCHAMITCHIAN¹,
Marianne COUSIN¹, Jacques SENECHAL¹, Didier CRAUSER¹, Jean Paul VERMANDERE¹,
Cédric ALAUX¹, Yves LE CONTE¹, Luc P. BELZUNCES¹, Naima BARBOUCHE²,
Jean Luc BRUNET¹



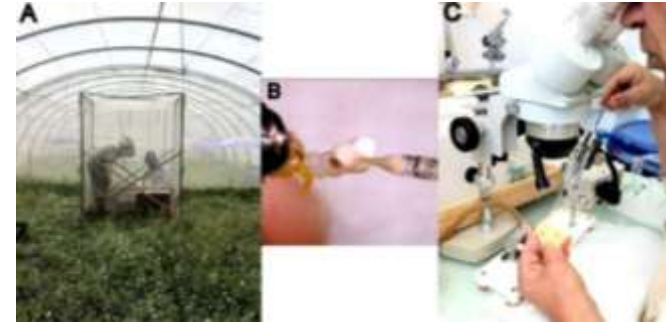
Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité : Approche Expérimentale 2/3

A. Elevage de faux-bourçons (Suite) :

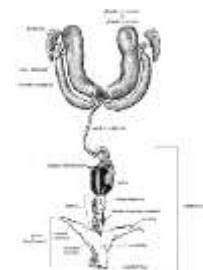
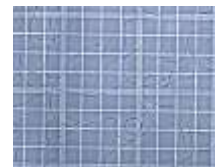


B. Exposition & Prélèvements

- **Spermiogénèse**
→ maturation physiologique dans les vésicules séminales
- **Intoxication orale et chronique à ≠ molécules insecticides**
→ Concentrations environnementales et sublétales
- **Infection(s)**

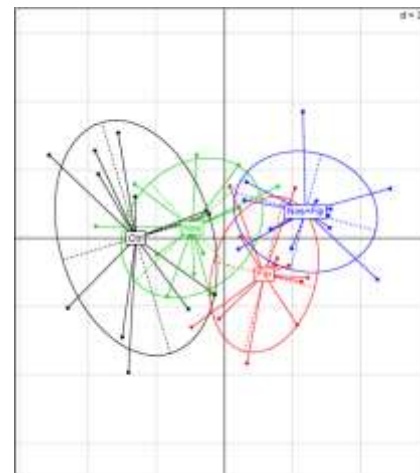


Développement d'outils d'analyses



Développement d'outils d'analyses

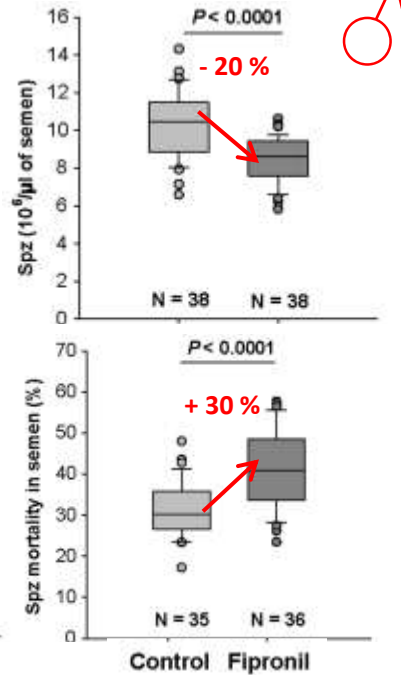
Physiological marker	Tissue	unit	Physiological functions	Physiological markers responses (Mean ± SD)			
				Control	<i>Nosema ceranae</i>	Fipronil [0.1 µg.L ⁻¹]	Nos + Fip [0.1 µg.L ⁻¹]
AChE	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	neural	253.9 ± 30.2 a	235.9 ± 35.0 ab	221.2 ± 27.0 b ↓	226.7 ± 15.8 b ↓
GOX	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	immune	32.3 ± 14.6 a	32.1 ± 13.5 a	34.0 ± 18.7 a	30.5 ± 18.7 a
GA3PDH	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic	325.1 ± 54.3 a	334.5 ± 41.1 ab	336.7 ± 39.6 ab	391.8 ± 41.1 b ↑
LDH	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic	46.5 ± 4.0 a	47.0 ± 3.8 a	52.5 ± 5.2 b ↑	53.0 ± 3.4 b ↑
ATP	head	UL.mg of tissue ⁻¹	metabolic	11117.6 ± 1023.4 a	11779.7 ± 900.8 ab	11171.3 ± 587.7 a	12421.8 ± 823.2 b ↑
GST	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification, antioxidant	252.3 ± 26.5 a	253.2 ± 28.2 a	232.8 ± 23.0 ab	228.3 ± 15.2 b ↓
G6PDH	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, antioxidant	7.8 ± 0.7 a	7.1 ± 1.3 a	7.2 ± 1.0 a	7.1 ± 0.9 a
CAT	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	antioxidant	139.5 ± 51.9 a	164.3 ± 58.4 ab	158.1 ± 99.0 ab	244.9 ± 54.7 b ↑
GP	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	antioxidant	24.9 ± 4.4 a	25.0 ± 4.4 a	31.01 ± 6.31 b ↑	32.8 ± 5.2 b ↑
GR	head	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	antioxidant	20.4 ± 5.6 a	21.6 ± 4.4 a	23.1 ± 3.9 ab	26.0 ± 4.9 b ↑
CaE-1	abdomen	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	316.6 ± 66.4 a	275.5 ± 39.4 a	265.8 ± 32.8 a	294.4 ± 54.4 a
CaE-2	abdomen	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	518.9 ± 48.3 a	523.8 ± 29.4 a	501.8 ± 32.6 a	506.2 ± 24.5 a
CaE-3	abdomen	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	70.1 ± 14.8 a	66.9 ± 8.1 a	68.7 ± 9.5 a	72.6 ± 15.2 a
POX	abdomen	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	immune	2.1 ± 0.8 a	2.5 ± 1.0 a	3.3 ± 0.7 b ↑	3.3 ± 0.6 b ↑
CaE-1	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	910.7 ± 172.3 a	913.2 ± 134.0 a	1003.0 ± 140.7 a	993.8 ± 115.5 a
CaE-2	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	536.5 ± 94.3 ab	521.5 ± 119.2 a	607.1 ± 61.8 b	577.8 ± 66.7 ab
CaE-3	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification	209.2 ± 49.3 a	211.6 ± 42.1 a	260.5 ± 45.2 b ↑	280.8 ± 37.4 b ↑
ALP	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	immune, metabolic	19.4 ± 5.6 ac	14.0 ± 4.7 b ↓	20.5 ± 6.4 c	16.0 ± 5.5 ab
ATP	midgut	UL.mg of tissue ⁻¹	metabolic	23798.2 ± 7663.7 a	28557.6 ± 12897.7 a	22123.8 ± 9941.7 a	22613.4 ± 9276.1 a
GST	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	metabolic, detoxification, antioxidant	203.3 ± 39.7 a	204.4 ± 37.1 a	222.0 ± 25.0 a	254.3 ± 27.7 b ↑
CAT	midgut	mUA.min ⁻¹ .mg of tissue ⁻¹	antioxidant	1154.8 ± 315.6 a	1414.8 ± 208.4 bc	1345.4 ± 330.8 ab	1606.4 ± 313.8 c ↑



Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité : Avancées 1/2

Cas du Fipronil :

Effets directs sur la fertilité des mâles → Insémination → Effets indirects sur le potentiel reproducteur de la reine



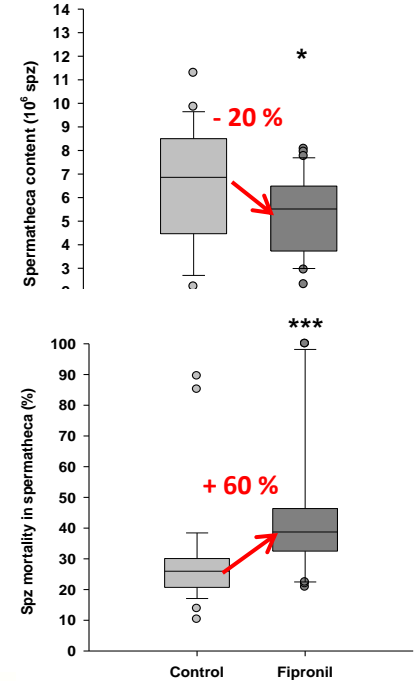
SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential

Received: 28 January 2018
Accepted: 26 July 2018
Published: 27 August 2018

Guillaume Kairo¹, Bertille Provost², Sylvie Tchamitchian¹, Faten Ben Abdelkader^{1,3}, Marc Bonnet², Marianne Cousin¹, Jacques Sénéchal¹, Faouine Benet², André Kretzschmar⁴, Luc P. Belzances¹ & Jean-Luc Brunet¹



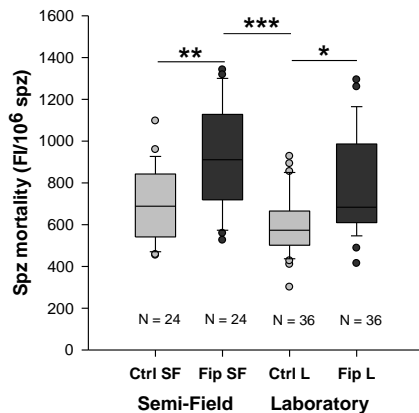
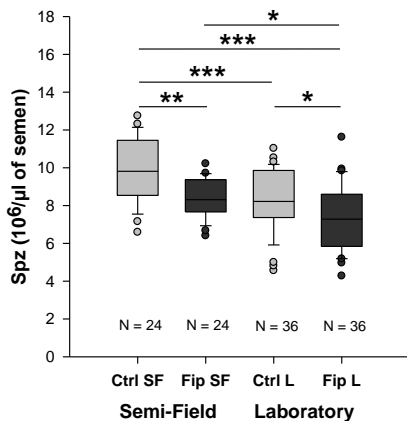
Reprotoxicité de stressseurs environnementaux sur la fertilité : Avancées 2/2

Cas du Fipronil

Expositions en laboratoire vs en conditions semi-contrôlées : Vers un test réglementaire de reprotoxicité ?



	Semi-Field (N=8)	Laboratory (N=6)	<i>p</i> value
	mean ± SD	mean ± SD	
Initial amount of drone/hive or cage	300	150	
Drone survival rate (%)	50.86 ± 20.09	73.67 ± 13.89	0.035
Drone maturity rate (%)	59.18 ± 8.59	73.19 ± 07.17	0.007
Semen volume (µl/drone)	0.91 ± 0.07	1 ± 0.065	0.022
Semen volume (µl/hive or cage)	69.50 ± 26.73	71.5 ± 9.56	0.865



• Comparaison entre méthodes d'expositions

- Différences constatées entre les 2 méthodes d'élevages (niveau)
- **Mêmes effets reprotoxiques du fipronil obtenus (amplitude)**

• A long terme :

- Ring test en vue d'un test d'évaluation de la reprotoxicité des produits phytopharmaceutiques avant l'AMM?
- Applications à l'élevage ?
 - Optimisation de la production de mâles pour la fécondation de reines
 - Evaluation de la qualité en fonction de l'âge, de la saison, de la souche ou de l'environnement



Remerciements



Mercedes Charreton
Aklesso Kadala
Ingrid Jakob
Yves Le Conte
Mickaël Henry
Axel Decourtye
Guy Rodet



Pierre Charnet
Thierry Cens
Matthieu Rousset



Jean-Christophe Sandoz



Mohamed Chahine
Pascal Gosselin-Badaroudine
Michael Klein



French National Research Agency – ANR
Bee-Channels 13-BSV7-0010



Jean-Luc Brunet
Sylvie Tchamitchian
André Kretzschmar
Apiculture Remuoux
Région PACA
Département SPE
David Biron
Guillaume Kairo
Faten Ben Abdelkader
Naïma Barbouche
Haithem Adji
Maurice Benoit
Marianne Cousin
Jacques Sénéchal
Marc Bonnet
Yannick Poquet
Bertille Provost
Michel Pélissier
Didier Crauser
Yves Le Conte
Cédric Alaux
Claudia Dussaubat

France AgriMer Fertility Programme

