

Effets du fipronil à des doses sublétales sur le comportement de l'abeille

Monique Gauthier, Abdelsallam Kacimi el Hassani, Yassine Aliouane, Abel Bernadou, Catherine Armengaud

Centre de Recherches sur la Cognition Animale UMR 5169 Université Paul Sabatier 118 route de Narbonne 310620 Toulouse cedex

Résumé

Les fonctions sensorielles et motrices de l'abeille ainsi que ses capacités d'apprentissage ont été étudiées en laboratoire après exposition aiguë ou chronique à des doses sublétales de fipronil, administrées par voie orale ou par contact.

Les tests comportementaux ont été réalisés sur des butineuses prélevées directement à l'entrée de la ruche pour les études de toxicité aiguë. La toxicité chronique a été étudiée sur des abeilles prélevées à l'émergence. Après une semaine d'adaptation en cagette, elles ont subi une contamination quotidienne pendant 11 jours. La contamination orale en intoxication aiguë a été réalisée en nourrissant les abeilles 15 min avant le test avec 1 µl de solution sucrée contaminée. Pour la contamination chronique des abeilles en cagette, la molécule était ajoutée au sirop de nourrissage et le volume de sirop était ajusté chaque jour au nombre d'abeilles présentes dans la cagette. La contamination par contact a été réalisée en déposant une goutte de 1 µl de solution contaminée sur le thorax de l'abeille, en intoxication aiguë ou chronique. Le fipronil (DL_{50} env. 5 ng/ab) dilué dans l'acétone a été testé aux doses de 1 ng, 0,5 ng et 0,1 ng/ab en application aiguë et aux doses de 0,1 ng et 0,01 ng/ab en application chronique.

En application thoracique aiguë, la dose de 1 ng/ab diminue la sensibilité aux solutions sucrées faiblement concentrées. La dose de 0,5 ng/ab perturbe l'apprentissage et la mémoire du conditionnement olfactif. L'intoxication chronique à la dose de 0,1 ng/ab entraîne une mortalité totale au bout de 1 semaine d'exposition. La dose de 0,01 ng/ab (contact) augmente la consommation d'eau des abeilles pendant la période d'intoxication et diminue les déplacements locomoteurs mesurés dans une enceinte pendant 3 min. Le fipronil (0,01 ng/ab, oral ou par contact) perturbe la capacité de discrimination des odeurs.

Ces expériences montrent que l'application de fipronil par contact entraîne des modifications du comportement de l'abeille. En intoxication aiguë, les fonctions gustatives et mnésiques sont légèrement perturbées. Le traitement chronique potentialise les effets de la plus faible dose utilisée en aiguë (0,1 ng/ab) qui devient létale. La dose de 0,01 ng/ab ($DL_{50}/500$) présente des effets perturbateurs limités sur la locomotion, la consommation d'eau et la discrimination des odeurs.

Ces données doivent être intégrées dans un schéma d'exposition des abeilles au fipronil, afin de pouvoir évaluer le risque en situation de plein champ.

Mots-clés : abeille, pesticides, fipronil, locomotion, gustation, apprentissage, mémoire.

Introduction

Le fipronil est un insecticide utilisé dans des produits à usage agricole. Il constitue la molécule active du Régent TS[®], utilisé en enrobage des semences de maïs et de tournesol et protège la plante pendant toute sa croissance. Il peut migrer dans le xylème de la plante (Aajoud et al. 2006) et se retrouver en faibles quantités dans les parties de la plante comme le nectar et constituer une source d'intoxication pour les insectes non-cibles comme les abeilles.

Le fipronil appartient à la famille des phénylpyrazoles (Bloomquist 1996) et agit sur les systèmes inhibiteurs du système nerveux central. Ses cibles sont les récepteurs à l'acide γ -amino butyrique (GABA) et les récepteurs au glutamate couplés à un canal chlore inhibiteur (Barbara et al. 2005; Jansen et al. 2007). Ces derniers récepteurs sont spécifiques de l'insecte, ce qui expliquerait la plus grande efficacité du fipronil sur l'insecte par rapport aux vertébrés (Narahashi et al. 2007). Le blocage des récepteurs inhibiteurs par le fipronil entraîne une hyperactivité des réseaux nerveux qui peut conduire à la mort de l'animal.

Au cours de ses activités de butinage, l'abeille peut être en contact, de façon unique ou répétée, avec de faibles quantités de fipronil présentes dans le pollen ou le nectar. Le pesticide peut également être accumulé dans les produits de la ruche qui servent à nourrir les larves ou les jeunes ouvrières. Plusieurs scénarii d'exposition sont envisageables dans lesquels les jeunes ouvrières ou les butineuses sont en contact avec de faibles doses de façon ponctuelle ou répétée.

Les tests reconnus au plan européen, effectués sur l'abeille en laboratoire ou sous tunnel, ont montré pour le fipronil des effets toxiques très limités à court terme (période d'observation de 72 ou 96 h) et ont conduit, dans un premier temps, à l'autorisation de l'utilisation du produit dans des conditions contrôlées. Cependant, ces tests ne prennent pas en compte des effets sublétaux qui, à long terme, pourraient modifier des fonctions complexes comme l'orientation, la mémoire ou l'apprentissage et conduire par exemple au dépeuplement des ruchers. Il nous a paru donc important de cibler au mieux l'effet du fipronil sur le comportement de l'abeille et de réaliser des observations à long terme d'abeilles qui auraient été mises en contact avec le produit de façon répétée.

Deux types d'expérimentations ont été réalisés. Dans une première série d'expériences, nous avons testé l'effet du fipronil après une seule exposition au produit, orale ou topique. Afin de nous rapprocher des conditions d'exposition des abeilles à ce produit dans le milieu naturel, nous avons également développé un protocole d'intoxication chronique d'abeilles à l'émergence avec une exposition quotidienne orale ou topique pendant 11 jours.

La mortalité a été contrôlée. Les fonctions biologiques qui ont été étudiées sont l'activité locomotrice, la perception de l'eau et des solutions sucrées et plusieurs formes d'apprentissage et de mémoire.

Les résultats montrent que le fipronil à faible dose ($DL50/50 < \text{dose} < DL50/5$) en traitement aigu perturbe la perception des solutions sucrées et détériore les capacités d'apprentissage et de mémoire. La dose équivalente à la $DL50/50$ entraîne la mort des animaux après une semaine d'exposition. Une dose 10 fois plus faible en traitement chronique perturbe la discrimination des odeurs et augmente la consommation d'eau.

Matériel et méthodes

1) Animaux, protocoles de contamination, doses utilisées

Les tests comportementaux ont été réalisés en laboratoire à l'échelon individuel sur des butineuses prélevées directement à la ruche (vol de retour) pour les études de toxicité aiguë. Pour les études de toxicité chronique, les abeilles ont été prélevées à l'émergence sur les

cadres de couvain. Après une semaine d'adaptation en cagette, elles ont subi une contamination quotidienne pendant 11 jours.

Deux protocoles de contamination ont été utilisés, une contamination orale et une contamination par contact (topique). Pour la contamination orale aiguë, les abeilles ont été nourries avant le test avec 1 µl de solution sucrée contenant le fipronil. Pour la contamination chronique des abeilles maintenues en cagette, le fipronil était ajouté au sirop de nourrissage et le volume de sirop était ajusté chaque jour au nombre d'abeilles présentes dans la cagette, sur la base d'une consommation de 33 µl par abeille et par jour (Decourtye et al. 2005). La contamination par contact, aiguë ou chronique, a été réalisée en déposant une goutte de 1 µl de solution contenant le fipronil sur le thorax de l'abeille.

Le fipronil (Cluzeau Info labo, Sainte-Foy-La Grande) a été utilisé à des doses représentant 1/5 à 1/500 de la dose létale 50 (DL50) (DL 50 orale 48 h: 5ng). La solution mère a été préparée dans l'acétone (Sigma). Pour l'application topique, les dilutions successives ont été réalisées dans de l'eau distillée et la proportion d'acétone dans la solution finale était de 10%. Pour l'intoxication orale, la dilution finale a été faite dans un sirop de sucre à 50% avec une proportion de 0,3% d'acétone dans le sirop de nourrissage. Des groupes d'abeilles recevant le solvant (0,3 % d'acétone en contamination orale et 10 % en contamination topique) ont constitué les témoins.

2) Tests comportementaux

2.1) Activité locomotrice

L'activité locomotrice a été quantifiée en introduisant l'abeille dans une enceinte verticale vitrée (30 x 30 x 4 cm) dont le fond opaque, face à l'expérimentateur, est quadrillé (5 x 5 cm) pour permettre le repérage de l'abeille dans le dispositif. L'éclairage par le haut induit un déplacement vertical de l'abeille sur la vitre. La position de l'abeille a été relevée toutes les 3 secondes pendant 3 minutes et les paramètres ont été quantifiés à l'aide d'un logiciel spécialement conçu au laboratoire (Lambin et al. 2001). Les paramètres mesurés étaient la distance parcourue, le temps passé en immobilité et le niveau vertical atteint (entre le niveau 1 inférieur et le niveau 6 en haut de l'enceinte).

Les tests dont la description suit ont été effectués sur des abeilles en contention. La contention a été réalisée en fixant individuellement chaque abeille dans un petit tube par une goutte de cire déposée sur l'arrière du thorax. Le comportement observé est l'extension du proboscis. Le réflexe d'extension du proboscis (REP) est induit par la stimulation des antennes avec un stimulus gustatif, eau ou sucre. Il permet d'évaluer les capacités de perception gustative des abeilles. Lorsqu'il est associé à un stimulus conditionnel (olfactif ou tactile), ce réflexe permet d'étudier les capacités d'apprentissage associatif et de mémorisation. Ces tests ont été réalisés sur des abeilles mises à jeûn pendant une durée contrôlée afin d'augmenter la probabilité de déclenchement du réflexe.

2.2) Taux de réponse à l'eau. Le test proposé permet de déterminer si le pesticide utilisé modifie la perception de l'eau chez l'abeille. Chaque abeille est stimulée par une goutte d'eau déposée au niveau des antennes. Le nombre d'abeilles au sein d'un lot répondant par un REP est comptabilisé et exprimé en pourcentage. Les lots témoins ont été comparés aux lots contaminés.

2.3) Taux de réponse aux solutions sucrées. Dans ce test, les abeilles sont stimulées au niveau des antennes avec des solutions sucrées de concentration croissante (0,03%, 0,1%, 0,3%, 1%, 3%, 10% et 30%). Les stimulations sont délivrées toutes les 3 minutes. On dénombre dans chaque groupe d'abeilles les individus répondant par un REP à chaque

solution sucrée. Les résultats exprimés en pourcentages ont été comparés entre les témoins et les animaux contaminés. Ce test permet de détecter une modification de la perception du nectar qui pourrait être induite par une contamination avec le pesticide.

2.4) Apprentissages associatifs.

Conditionnement olfactif du REP. Dans cet apprentissage, une odeur qui représente le stimulus conditionnel (SC) est dirigée vers les antennes de l'abeille pendant 6 secondes. Trois secondes après le début de la stimulation olfactive, les antennes sont touchées avec une solution sucrée (40%) (stimulus inconditionnel, SI) qui induit l'extension des pièces buccales. Après plusieurs associations des stimulations olfactives et gustatives, l'abeille répond à l'odeur seule par l'extension du proboscis, ce qui constitue la réponse conditionnée. L'apprentissage qui a été réalisé comportait 5 essais, séparés d'une minute.

Conditionnement tactile du REP. Dans ce conditionnement la stimulation gustative (eau sucrée, SI) est précédée par une stimulation tactile des antennes (SC). La stimulation gustative est appliquée au niveau du proboscis et la stimulation tactile est appliquée au niveau des antennes pour dissocier la voie du stimulus inconditionnel de la voie du stimulus conditionnel. Une petite plaque métallique rayée est approchée de l'antenne droite ou gauche et l'abeille explore l'objet pendant 6 secondes. Trois secondes après le début de l'exploration de l'objet, la solution sucrée est délivrée au niveau du proboscis pendant 3 secondes. L'apprentissage comportait 6 essais séparés de 10 minutes.

Dans ces deux apprentissages, l'extension du proboscis était récompensée par le fait que l'abeille pouvait prélever avec son proboscis quelques microlitres d'eau sucrée. Des tests de mémorisation ont été effectués à court terme (1 h pour l'apprentissage olfactif et 3 h pour l'apprentissage tactile) et à long terme (24 h et 48 h) après l'entraînement. Les tests consistent à présenter le stimulus conditionnel seul et ils permettent d'évaluer les capacités de mémorisation à court terme et à long terme. Dans certaines expériences, un nouveau stimulus tactile ou olfactif était présenté au moment du test en plus du SC pour tester la spécificité de la réponse apprise. Ceci sera précisé dans la présentation des résultats.

3) Tests statistiques

Le test de Kaplan-Meier a été utilisé pour comparer la mortalité cumulée sur 11 jours entre lots traités et témoins. Le test t de Student a été utilisé pour comparer les paramètres de la locomotion et la consommation d'eau journalière en contamination chronique, entre les lots traités et les lots témoins. Le test du khi-deux de Pearson a été utilisé pour comparer, entre les animaux traités et les témoins, les taux d'extension du proboscis (REP) aux solutions sucrées et au stimulus olfactif ou tactile dans les apprentissages et les tests de mémoire. Le test de MacNemar a permis de comparer, à l'intérieur du même groupe, les taux de réponses au stimulus conditionnel et au stimulus nouveau lors des tests de mémoire. Pour tous ces tests, le seuil de significativité a été fixé à 5%. Les courbes d'apprentissage tactiles ont été analysées avec une ANOVA à 2 facteurs (facteur 1 : traitement, facteur 2 : essais) dont un répété (facteur 2 : essais). Les réponses à l'intérieur du même groupe (contrôle ou fipronil) ont été testées à l'aide du test Q de Cochran. Ce test était suivi, quand il était significatif, par le test de Marascuilo et McSweeney.

Résultats

1) Exposition aiguë

Le fipronil a été administré à chaque abeille, par voie orale ou par contact, à l'une des doses suivantes: 1 ng, 0,5 ng, 0,1 ng et 0,01 ng,

Mortalité

Une augmentation significative de la mortalité a été observée 36 h et 48 h après l'exposition orale et topique au fipronil (figure 1).

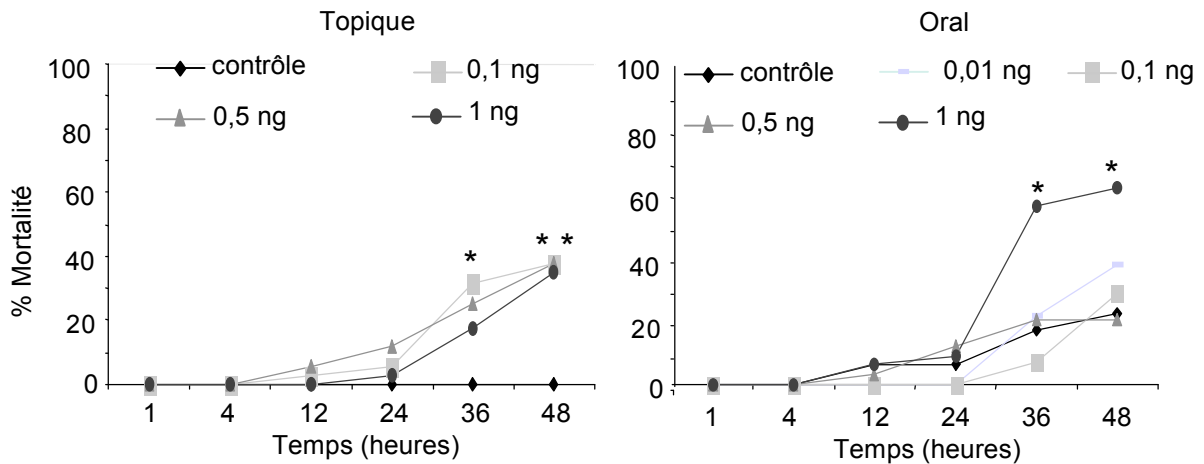


Fig 1: Courbes de mortalité cumulée des abeilles après application topique ou ingestion de fipronil, en fonction du temps et de la dose. Exposition topique (*) $p < 0,05$ (contrôle / 0,1 ng) ; (**) $p < 0,05$ (contrôle / 0,1; 0,5 et 1 ng); exposition orale : (*) $p < 0,05$ (contrôle / 1 ng). $n = 15$ pour chaque groupe

Activité locomotrice

Elle a été mesurée 1 h après l'exposition orale ou topique. Quelles que soient les doses et la modalité d'application utilisées, aucune modification de l'activité locomotrice n'a été observée par rapport aux témoins.

Sensibilité aux solutions sucrées

Le taux de réponse d'extension du proboscis a été mesuré avant l'exposition orale ou topique au fipronil ou au solvant et 1 h après. Seule la dose la plus forte de fipronil (1 ng/ab) en application topique induit une diminution de la sensibilité au sucre qui se manifeste par une diminution du pourcentage de réponses aux faibles concentrations. Aucun effet n'est observé après exposition orale ce qui exclut aussi un effet du solvant (acétone 10%) sur la perception des solutions sucrées (figure 2).

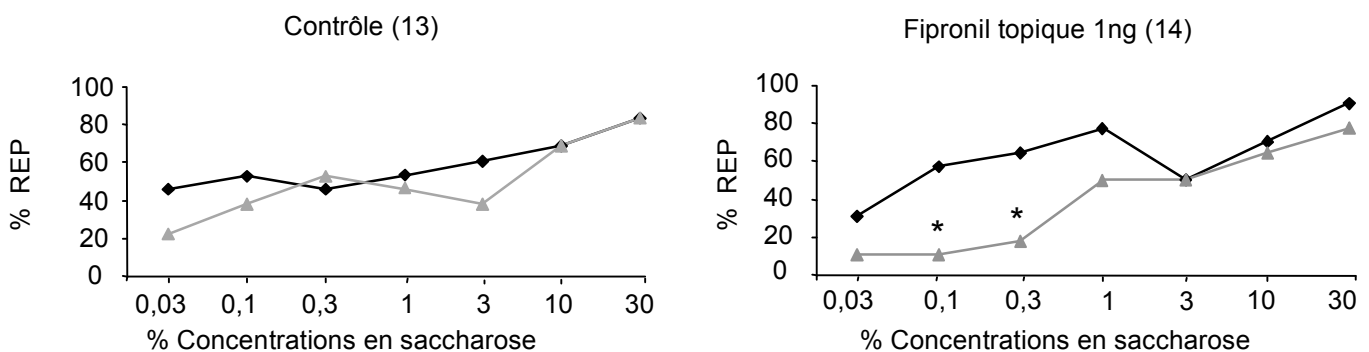


Fig 2: Taux de réponse d'extension du proboscis (REP) aux solutions sucrées chez des lots d'abeilles témoins ou exposés au fipronil de façon topique. Courbe en noir: réponse avant l'application de solvant ou de fipronil; courbe en gris: réponse après l'application de solvant ou de fipronil.

Conditionnement olfactif

Le conditionnement a été réalisé 3 h après l'exposition orale ou topique au fipronil ou au solvant. Le fipronil, à la dose la plus faible (0.01 ng/ab) administrée oralement, provoque un effet perturbateur significatif sur la phase d'apprentissage et sur la mémorisation testée 1 h, 24 h et 48 h après la séance d'entraînement. Les doses plus élevées n'ont pas d'effet. En application topique, la dose de 0.5 ng/ab induit une diminution des performances en apprentissage et en situation de rappel.

Conditionnement tactile

Ce conditionnement a été réalisé chez des animaux ayant reçu par contact une seule dose de fipronil (0.5 ng/ab) 15 minutes avant la séance d'entraînement.

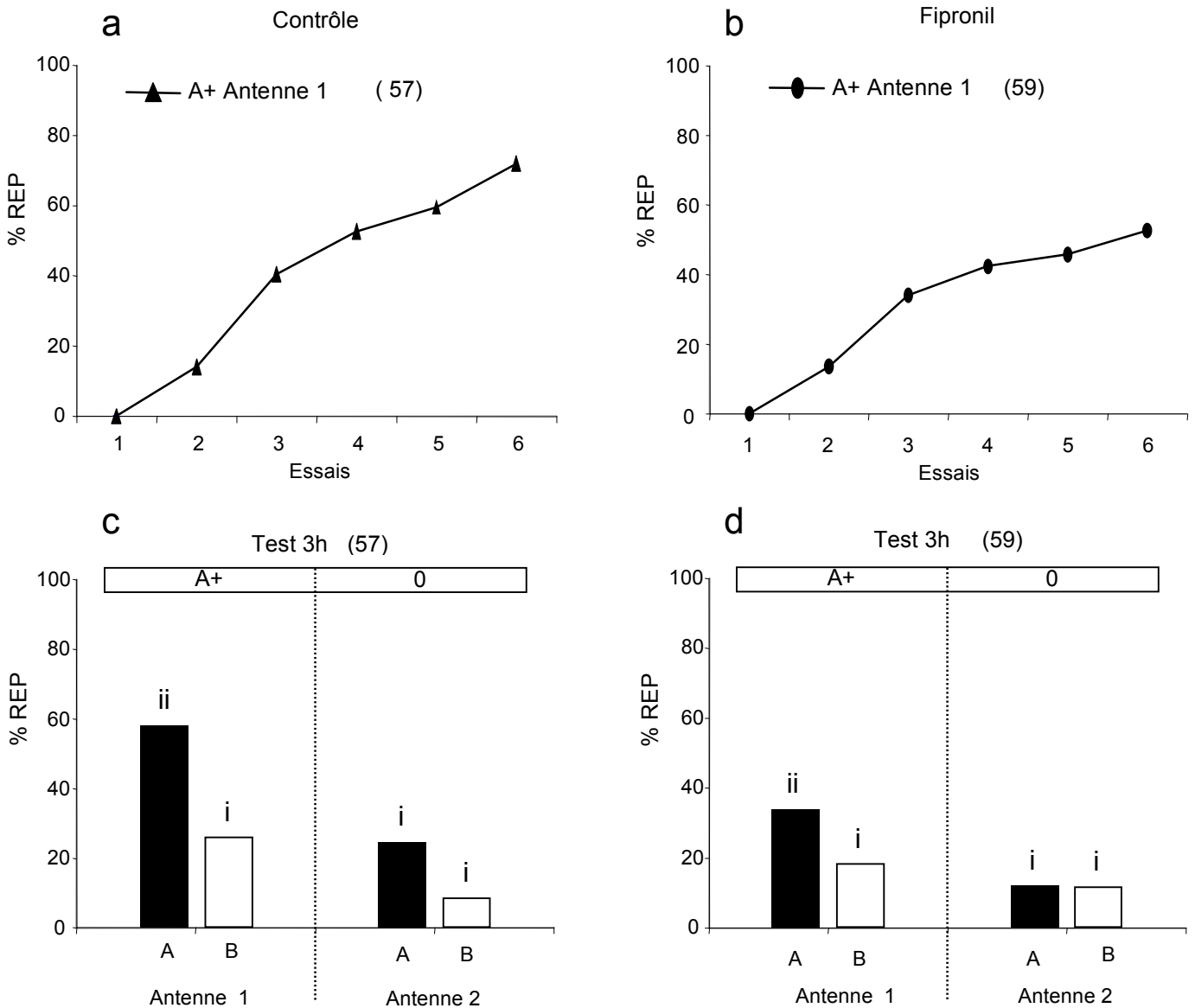


Fig 3: Apprentissage et mémorisation d'un conditionnement tactile latéralisé. **a** et **b**: courbes d'apprentissage tactile en 6 essais chez des abeilles témoins (**a**) ou après 15 min d'exposition au fipronil (0,5 ng) (**b**). Le stimulus est présenté sur une seule antenne (droite ou gauche). **c** et **d**: tests de mémoire effectués 3 h après l'apprentissage. Les deux antennes sont stimulées avec le stimulus conditionnel (A) et avec un nouveau stimulus (B). Des indices différents (i) et (ii) indiquent des différences significatives entre les histogrammes.

Dans cette expérience, les abeilles sont conditionnées à associer un stimulus tactile (A), présenté sur une antenne (droite ou gauche) à une récompense sucrée. La deuxième antenne n'est pas stimulée. L'apprentissage comporte 6 essais. Lors des tests de mémoire effectués 3 h et 24 h après l'entraînement, le stimulus conditionnel A est présenté à chaque antenne, ainsi qu'un nouveau stimulus B. Ainsi, le transfert de l'information apprise entre les deux parties du cerveau est testé, de même que la généralisation de la réponse conditionnelle à un stimulus nouveau. Les résultats ont montré que les abeilles traitées apprennent moins bien que les témoins mais la différence n'est pas significative (figure 3) (ANOVA à mesures répétées, effet traitement: $F_{1,114} = 2.105, p = 0.149$). Lors des tests de mémoire, bien que les taux de réponse au stimulus A pour l'antenne 1 soient plus bas que pour le groupe contrôle, les abeilles traitées au fipronil apprennent à discriminer le stimulus A du nouveau stimulus. Du côté non conditionné (antenne 2) les taux de réponse aux deux stimuli sont très faibles et équivalents. En conclusion, le fipronil à la dose de 0.5 ng/ab perturbe modérément les capacités d'apprentissage tactile et la mémoire; les capacités de discrimination des stimuli tactiles sont préservées.

2) Exposition chronique

Mortalité

Le fipronil à la dose de 0.1 ng/ab provoque, au bout de 7 jours, la mort de la totalité des abeilles traitées oralement ou par voie topique (figure 4). En conséquence, l'étude de l'effet du fipronil en intoxication chronique sur les fonctions biologiques de l'abeille a été réalisée à la dose de 0.01 ng/ab.

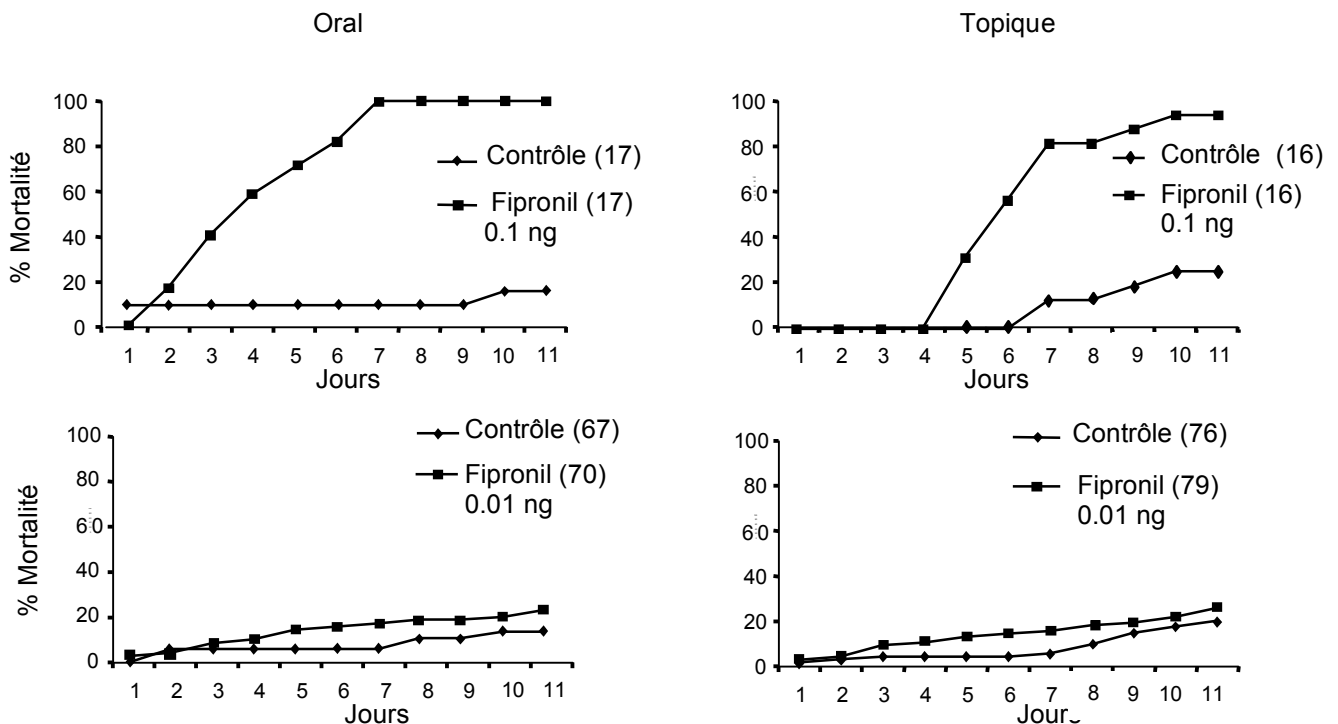


Fig 4: Courbes de mortalité cumulée après exposition orale ou topique au fipronil à la dose de 0,1 ng/ab (graphes du haut) et à la dose de 0,01 ng/ab (graphes du bas). Comparaison des courbes (test de Kaplan-Meier): fipronil 0.1 ng/ab, oral vs contrôle $p = 0.003$; topique vs contrôle $p = 0.011$; fipronil 0.01 ng/ab, oral vs contrôle $p = 0.758$, topique vs contrôle $p = 0.893$

L'exposition au fipronil pendant 11 jours à la dose de 0,01 ng/ab entraîne une augmentation de l'agressivité entre les individus. Ceci se manifeste par des attaques entre les abeilles à l'intérieur de la cagette, des battements des ailes et l'émission de la phéromone d'alarme détectée par l'expérimentateur.

Activité locomotrice

Le fipronil à la dose de 0,01 ng/ab n'induit aucune modification du comportement locomoteur, quelle que soit la modalité d'exposition utilisée. Aucune différence significative n'a été observée par rapport aux témoins concernant la distance parcourue dans la boîte, la durée passée en immobilité et le niveau atteint dans le plan vertical (test de t de Student, $p > 0.05$ dans tous les cas).

Consommation d'eau et taux de réponse à l'eau

La consommation d'eau est significativement augmentée chez les abeilles ayant reçu du fipronil (0.01 ng/ab) en application topique (test t sur la différence des consommations moyennes journalières, $p < 0.001$) (figure 5). Par contre, le pourcentage d'abeilles répondant par un REP à la stimulation des antennes avec de l'eau est identique entre les lots traités par voie orale ou topique et les lots témoins correspondants.

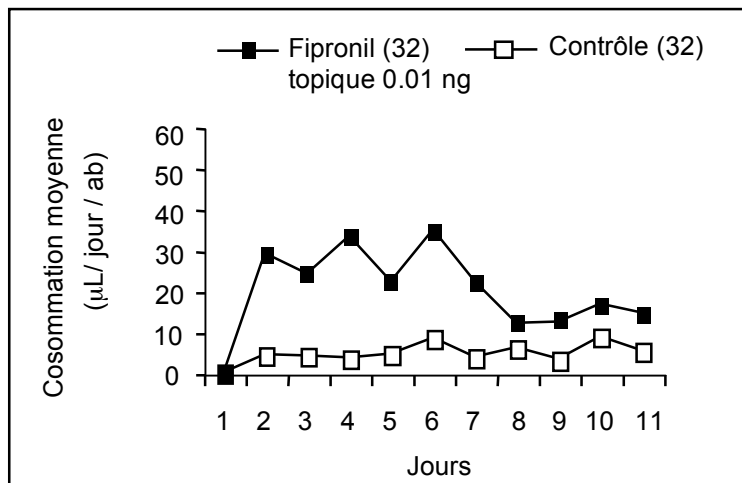


Fig 5: La consommation quotidienne d'eau, mesurée dans le lot témoin et le lot traité de façon topique, est ramenée au nombre d'individus présents dans chaque cagette (µL / jour / abeille).

Taux de réponse au sucre

La contamination orale avec le fipronil (0.01 ng/ab) induit une diminution du taux de réponse pour la concentration d'eau sucrée à 0,3%. Il n'y a pas d'effet de la contamination par contact.

Conditionnement olfactif

Le traitement des abeilles avec du fipronil ne modifie leurs capacités d'apprentissage olfactif. Après une intoxication orale ou topique, les abeilles traitées comme les témoins montrent un taux d'apprentissage de 60% à la fin de la séance d'entraînement (figure 6).

Les taux de rappel sont identiques entre les groupes traités et contrôle, quels que soient le délai du test de rappel et la modalité de traitement. Ainsi, on peut conclure que la mémoire à court terme (1 h) et la mémoire à long terme (24 h et 48 h) ne sont pas affectées par le traitement. Par contre, les capacités de discrimination olfactive, qui ont été testées en présentant à l'abeille une odeur nouvelle et l'odeur conditionnée, sont perturbées aux délais de 24 h et 48 h quelle que soit la modalité de traitement. Les taux de réponse aux deux odeurs ne sont pas significativement différents. Les abeilles ne reconnaissent pas spécifiquement l'odeur

conditionnée. La figure 6 illustre les effets induits par l'ingestion de fipronil sur l'apprentissage olfactif et la généralisation de la réponse conditionnée à l'odeur nouvelle.

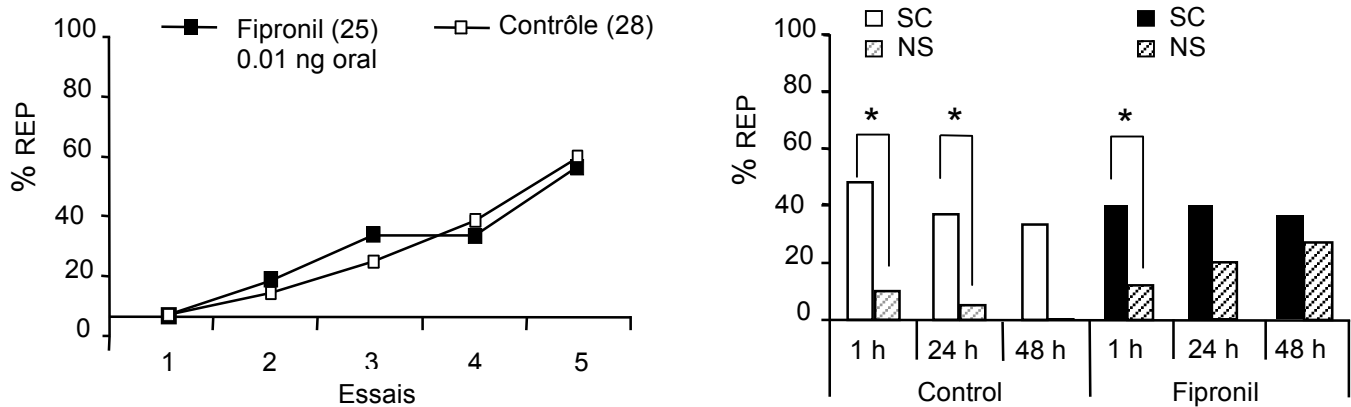


Fig 6: Apprentissage et mémorisation d'un conditionnement olfactif. Courbes de réponses conditionnées (REP) pendant l'apprentissage (à gauche). Le stimulus conditionnel (SC) et un nouveau stimulus olfactif (NS) sont présentés pendant les tests à 1 h, 24 h et 48 h (à droite).

Conclusion

L'exposition aiguë au fipronil, par contact ou en ingestion à des doses subléthales, provoque une perturbation de la perception des solutions sucrées et des processus d'apprentissage et de mémorisation du conditionnement olfactif. Les effets ne sont pas liés à la dose, car l'apprentissage olfactif est perturbé par la dose la plus faible (0,01 ng/ab) délivrée dans le sirop de nourrissage (El Hassani et al. 2005).

Dans des conditions d'exposition répétée (11 jours), le fipronil à une dose 50 fois inférieure à la DL50 (0,1 ng/ab) induit une mortalité totale après une semaine d'exposition. Une dose 500 fois inférieure à la DL50 (0.01 ng/ab) n'induit plus de mortalité par rapport au groupe témoin. Ces données sont en accord avec celles de la littérature qui rapportent globalement le même rapport dose/mortalité après application topique pendant 11 jours (Decourtye et al. 2005). Les tests comportementaux que nous avons réalisés montrent que la mortalité n'est pas un facteur suffisant pour évaluer les effets chroniques d'un produit. Le fipronil à une dose qui n'induit pas de mortalité (0.01 ng/ab) modifie certaines des fonctions que nous avons testées. La consommation d'eau est augmentée, la sensibilité au sucre est légèrement diminuée et la discrimination des odeurs est perturbée. Les effets sur le comportement d'une dose 500 fois inférieure à la DL50 restent limités sur le comportement (Aliouane et al. 2008). Ces observations effectuées en laboratoire à l'échelon de l'individu, ne peuvent être directement transposées à l'échelle de la colonie. Un modèle mathématique basé sur des données de terrain devrait permettre de définir dans quelle mesure une perte de la sensibilité gustative ou de la discrimination des odeurs peut avoir un impact négatif sur le fonctionnement de la ruche.

L'évaluation du risque pour les abeilles, lié à l'utilisation du fipronil en situation de plein champ, nécessite de connaître la toxicité intrinsèque de la molécule, ce que nos travaux tentent de faire. Nous avons montré en situation de laboratoire que certaines fonctions biologiques sont modifiées par de faibles doses de fipronil, administrées de façon unique ou répétée. Le degré d'exposition des abeilles est fonction de la quantité de produit présente dans la plante et de la quantité de produit absorbée. Cette dernière dépend du statut de l'abeille au sein de la colonie. Plusieurs scénarii d'exposition doivent être définis, une butineuse sera à

priori plus exposée qu'une ouvrière à l'intérieur de la ruche. La combinaison de ces facteurs, toxicité et exposition, permettra alors de définir le risque lié à l'utilisation du fipronil pour les abeilles en plein champ.

Remerciements

Ce travail a fait l'objet d'une convention entre l'université Paul Sabatier, le CNRS et le Ministère de l'Agriculture, dans le cadre du Programme Communautaire pour l'Apiculture. Il a été financé par les trois organismes.

Bibliographie

- Aajoud, A., Raveton, M., Aouadi, H., Tissut, M., Ravanel, P., 2006. Uptake and xylem transport of fipronil in sun flowers. *J. Agric. Food Chem* 54:5055-5060.
- Aliouane, Y., El Hassani, A. K., Gary, V., Armengaud, C., Lambin, M., Gauthier, M., 2008. Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. *Environm. Toxicol. Chem.* 54:653-661.
- Bloomquist, J. R., 1996, Ion channels as targets for insecticides, *Ann. Rev. Entomol.*, 41:163-190.
- Barbara, G.S., Zube, C., Rybak., J., Gauthier, M., Grünwald, B., 2005. Acetylcholine, GABA and glutamate induce ionic currents in cultured antennal lobe neurons of the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A* 191:823-836.
- Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Le Menach, K., Budzinski, H., Cluzeau, S., Pham-Délégue, M. H., 2005. Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48:242-250.
- El Hassani A. K., Dacher, M., Gauthier, M., Armengaud, C., 2005. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharm. Biochem. Behav.* 82: 30-39.
- Lambin, M., Armengaud, C. , Raymond, S. , Gauthier, M., 2001., Imidacloprid-induced facilitation of proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 48. 129-134.
- Janssen, D., Derst, C., Buckinx, R., Van den Eynden, J., Rigo, J. M., Van Kerkhove, E., 2007. Dorsal unpaired median neurons of *Locusta migratoria* express ivermectin- and fipronil-sensitive glutamate-gated chloride channels. *J. Neurophysiol.* 97:2642-2650.
- Narahashi, T., Zhao, X., Ikeda, T., Nagat, K., Yeh, J. Z., 2007. Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. *Hum. Exp. Toxicol.* 26:361-366.