

Juin  
2013

## Technique d'élevage larvaire *in vitro* pour évaluer l'impact des pesticides sur le couvain

samedi 1er juin 2013, par [Renaud Hilleret](#)

### Introduction

Lors des journées d'étude de l'ITSAP (6 et 7 février 2013), a été présentée une méthode d'élevage *in vitro* de larves d'abeilles. Les recherches ont été menées à l'unité expérimentale d'entomologie de l'INRA du Magneraud, dirigée par P. Aupinel, que nous avons contacté pour en savoir plus ...

### Objectifs

Depuis 2004, l'équipe du laboratoire a travaillé à la mise au point d'un test destiné à évaluer les effets non intentionnels des pesticides sur le couvain d'abeille en conditions *in vitro*. Ce travail a donné lieu à une méthode d'élevage *in vitro* standardisée qui permet de tester les effets, d'une part à court terme sur les larves, d'autre part différés sur nymphes et adultes, suite à une exposition des larves à une molécule en mode aigu ou chronique.

L'objectif de l'élevage *in vitro* est de garantir l'uniformité des conditions de développement des larves afin de réaliser des tests de pesticides cohérents et recevables scientifiquement.



Nourrisseur sur ruchette cliché  
Régnault

L'ancienne méthode consistait à placer un nourrisseur sur la ruche en plein air avec du sirop contenant la substance à tester, et ne garantissait pas une exposition précise des larves au produit.

## Description de la méthode

La nouvelle méthode se déroule en plusieurs étapes. Elle débute par l'encagement de la reine sur un cadre bâti, au sein d'une ruche.

La reine pond ses œufs dans les cellules de ce cadre. Après 4 jours (3 jours pour le stade œuf + 24 premières heures du stade larve), les larves sont greffées dans des cupules en plastique. Cette première étape est identique à celle réalisée lors de l'élevage de reines avec picking.



**Encagement de la reine cliché INRA**

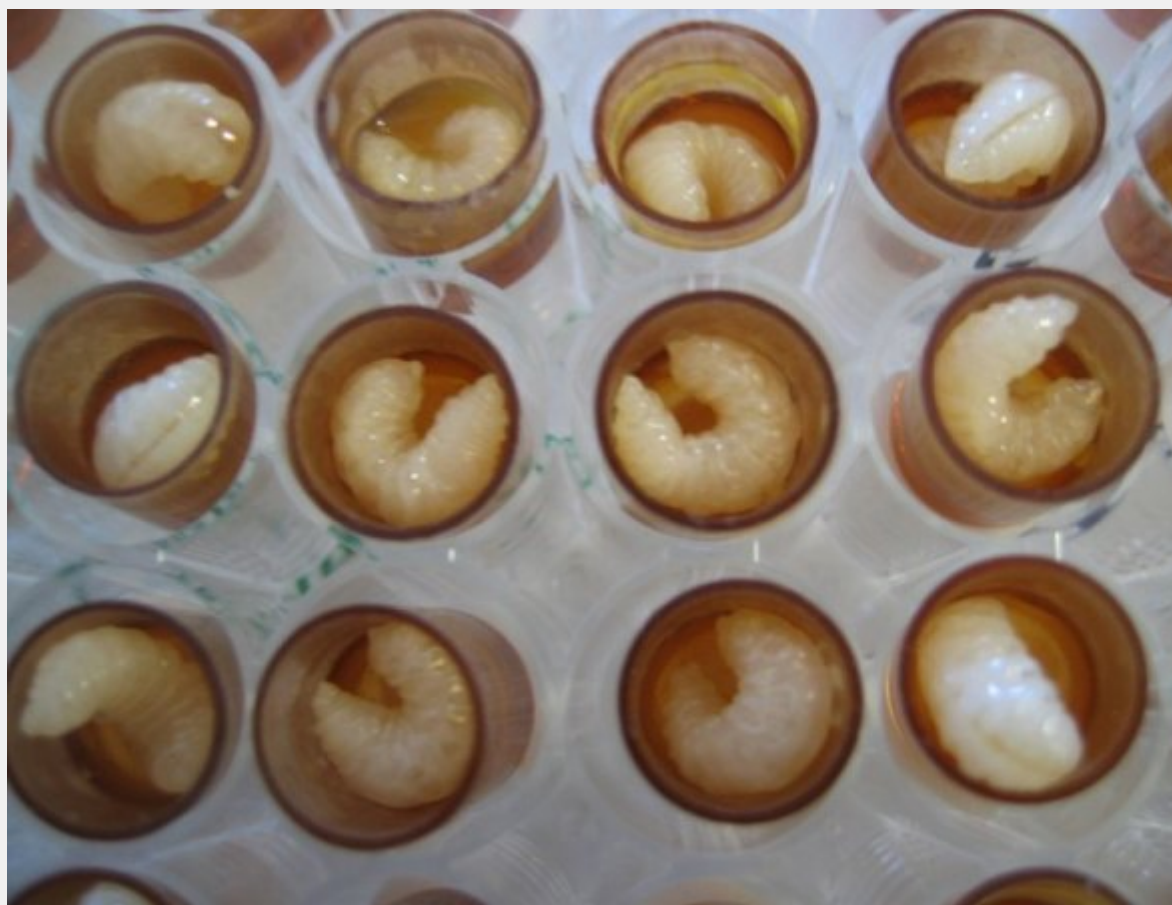


La suite, par contre, est différente, puisqu'au lieu d'être réintroduites dans une ruche, les cupules contenant les larves sont placées dans un incubateur, à température (34 °c) et hygrométrie (95%) contrôlées. Cette dernière est créée à partir d'une solution saturée de sulfate de potassium.



Incubateur cliché INRA

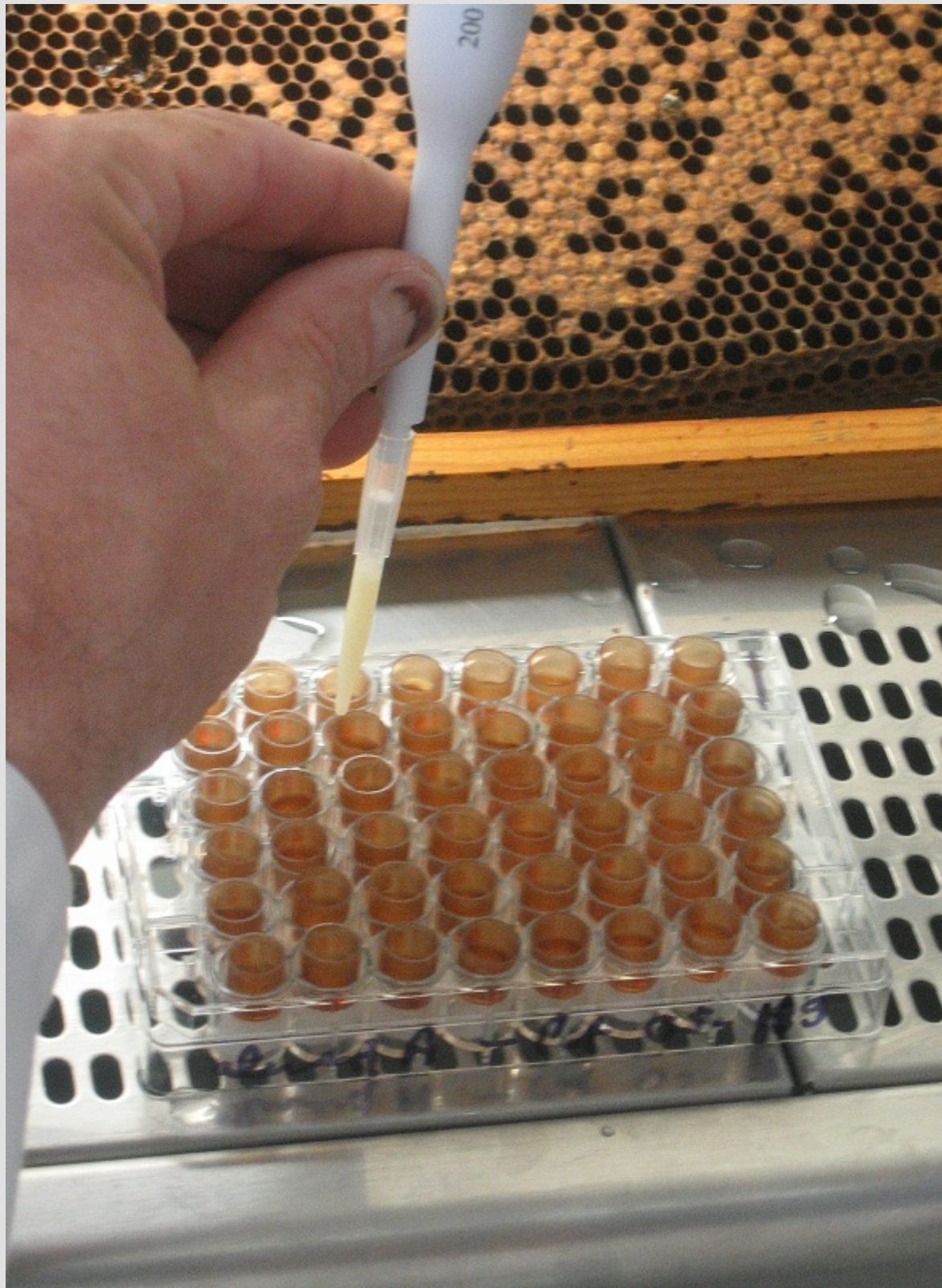
Chaque larve est nourrie, une fois par jour, excepté le 2<sup>e</sup> jour,, avec quelques dizaines de micro-litres d'un mélange composé à parts égales de gelée royale et de solution sucrée, déposé à l'aide d'une pipette dans chacune des cellules.



Larves cliché INRA



Le taux de sucre et de matière sèche dans l'aliment augmente progressivement au cours des 6 jours, tout comme la quantité d'aliment distribuée qui double dans ce laps de temps. La composition de l'alimentation a fait l'objet de nombreuses recherches. A ce jour, elle permet d'atteindre des taux de survie des larves jusqu'à l'imago supérieurs à 60 %. C'est via ce nourrissage que les larves peuvent être exposées au produit à tester, soit en mode aigu lors d'un seul nourrissage, soit en mode chronique au fil de ceux-ci.



**Alimentation des larves cliché INRA**

### **Résultats obtenus**

De très nombreuses études toxicologiques ont été réalisées sur de multiples pesticides. Par exemple, dans le cas d'une exposition aiguë, l'ingestion de 2 micro-grammes de diméthoate par les larves à l'âge de 4 jours provoque la mort de 50 % d'entre elles à 6 jours. Un autre test montre la baisse de 80 % du taux

d'émergence des adultes, suite à l'ingestion de quelques 47 nano-grammes de diflubenzuron par des larves âgées de 4 jours.

### Validation internationale à l'étude

Un test inter laboratoire a été réalisé en 2007 afin de valider cette méthode pour qu'elle intègre les schémas d'évaluation du risque sur l'abeille. Après que le test ait été adopté par la France, la méthode est aujourd'hui soumise pour une adoption au plan international.

### Conclusion

10 ans de travaux de recherche ont permis d'atteindre l'objectif : mettre à la disposition de la communauté scientifique d'une méthodologie fiable de test des pesticides. La recherche scientifique française apporte ainsi une contribution essentielle à l'analyse des causes de mortalité des colonies d'abeilles domestiques, et au débat actuel sur la nocivité des pesticides.

*Renaud Hilleret*

### Présentation de l'unité expérimentale d'Entomologie de l'INRA

L'unité expérimentale d'Entomologie met au point des méthodes pour évaluer les effets des pratiques agricoles sur les insectes pollinisateurs. L'enjeu : améliorer les pratiques agricoles pour préserver les insectes pollinisateurs dans le cadre d'une agriculture durable.

Située au Magneraud (40 kilomètres de La Rochelle), l'unité expérimentale d'Entomologie, qui rassemble 11 agents permanents, remplit deux missions :

- Mettre au point des méthodes pour évaluer les effets non intentionnels des pesticides sur l'abeille,
- Évaluer les effets des ressources alimentaires fournies par l'environnement agricole et le paysage, sur le développement des colonies d'abeilles.

Elle dispose des équipements suivants :

- Laboratoire de palynologie pour identifier par observation microscopique l'origine florale des pollens rapportés par les butineuses,
- Base de données botanique et palynologique de plus de 400 plantes mellifères ou pollinifères <http://guenievre.lusignan.inra.fr/e...>,
- 800 m<sup>2</sup> de laboratoires et chambres climatisées destinés à l'élevage d'insectes,
- Rucher intérieur de 10 ruches maintenues en activité pendant l'hiver et rucher extérieur de 150 ruches,
- Dispositif Ecobee d'observation des abeilles en milieu ouvert sur la zone atelier Plaine & Val de Sèvre de 46 000 ha gérée par l'unité Inra/CNRS Agripop (source INRA)