



HAL
open science

Evaluation des effets d'insecticides sur deux types d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France

Halitiana Joséa Rafalimanana

► **To cite this version:**

Halitiana Joséa Rafalimanana. Evaluation des effets d'insecticides sur deux types d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. *Ecologie, Environnement*. INAPG (AgroParisTech), 2003. Français. NNT : . tel-00005703

HAL Id: tel-00005703

<https://pastel.hal.science/tel-00005703>

Submitted on 5 Apr 2004

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.

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARIS- GRIGNON

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARIS- GRIGNON

Présentée et soutenue publiquement par

Halitiana Joséa RAFALIMANANA

le 13 janvier 2003

**Evaluation des effets d'insecticides sur deux types
d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique
(*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : études de
terrain à Madagascar et de laboratoire en France**

Membres du jury

Monsieur Robert DELORME,	Rapporteur
Monsieur Marc DUFUMIER,	Examineur
Madame Laure KAISER,	Co-directrice de thèse
Monsieur Yves LECONTE,	Rapporteur
Monsieur Frédéric MARION-POLL,	Examineur
Madame Minh-Hà PHAM-DELEGUE,	Directrice de thèse

*«Les actions du Seigneur sont grandioses ;
ceux qui les apprécient en font tous l'expérience.»*

Psaumes 111 : 2.

« ...un désir réalisé est source de vie.»

Proverbes 13 : 12 b

à mes parents, à mes sœurs et mes frères,

à Hery

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (INRA) de Bures-sur-Yvette en France, et sur le terrain à Madagascar en collaboration avec l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, à Antananarivo.

Pour la partie française, j'ai bénéficié d'une bourse du Ministère des Affaires étrangères, et le travail sur parasitoïde a bénéficié d'un financement dans le cadre d'un programme National de Recherches en Ecotoxicologie (PNETOX)

Je souhaite adresser mes remerciements à :

- Messieurs Robert Delorme et Yves Leconte pour avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteurs.
- Monsieur Marc Dufumier pour avoir accepté de faire partie du jury.
- Monsieur Frédéric Marion- Poll, responsable de la formation à l'INAPG, et membre de mon comité de thèse.
- Madame Laure Kaiser, pour sa co-direction et son soutien scientifique, sa patience, sa disponibilité pour la correction, son encadrement et qui m'a fait bénéficier de son expérience.
- Madame Minh-Hà Pham-Delègue, Directeur de l'INRA de Bures- sur- Yvette, qui m'a accueillie dans son groupe de recherche et qui a accepté de diriger ce travail, dont les critiques sont si précieuses pour moi.
- Madame Françoise Launay, à la Direction Scientifique de l'Ecole Doctorale ABIES, pour m'avoir incitée à participer aux formations de l'Ecole, et pour son aide dans la constitution du jury.
- Madame Anne Audbert, pour mon accueil à l'EGIDE en tant que stagiaire étrangère.
- Madame Joëlle De Ruyter, responsable du Service de Bourse à la Mission Française de Coopération et d'Action Culturelle, à l'Ambassade de France à Madagascar, qui m'a beaucoup aidée dans la demande de bourse.
- Monsieur Jean Michel Rabasse, Président du Centre de l'INRA d'Antibes et Directeur de Recherche à l'UMR ROSE, pour ses précieux conseils dans les interprétations des résultats sur terrain et pour l'identification des insectes parasitoïdes de pucerons.
- Monsieur Jean-Marie Delpuech, chercheur au Laboratoire de Biométrie, Génétique et Biologie des Populations- CNRS- Université Lyon1, pour sa participation au comité de thèse,
- Madame Mercedes Charreton, qui m'a beaucoup aidée avec bonne humeur, lors du prélèvement des abeilles.

- Madame Anne-Marie Duprat pour son aimable compréhension et qui m'a beaucoup aidée dans la recherche bibliographique.
- Madame Eliane Lahaye pour le suivi de mon dossier administratif, sa sympathie et sa disponibilité et son professionnalisme,
- Monsieur Noël Menay pour la réalisation et l'entretien du matériel expérimental, en particulier l'olfactomètre.
- Monsieur Axel Decourtye, pour ses conseils lors des différentes manipulations des abeilles et son aide si précieuse pour l'interprétation des résultats.
- Monsieur François-Xavier Dechaume- Moncharmont pour son aide précieuse en statistique.
- Monsieur Nicolas Desneux pour ses conseils lors des manipulations des parasitoïdes et ses aides lors des problèmes informatiques.
- à toute l'équipe de LNCI pour sa sympathie et ses conseils, mesdames et messieurs : David Laloi, Evelyne Genecque, Yves Loublier, Camille Joffre, Bernard Roger, René Marilleau, Hichem Azzouz, Dimitri Antouchev, Mathilde Briens, Antoine Chaffiol, Ricardo Ramirez, Isabelle Bonod.
- et toute l'équipe de l'INRA d'Antibes en particulier, Madame Annie Giria.

Du côté Malgache :

- Monsieur René Rabezandrina, Chef du département d'agriculture à l'ESSA, Antananarivo, pour ses conseils et ses recommandations dans la conduite de l'expérimentation sur le terrain, et son recours à la technique d'enquête.
- Monsieur Bède Ratsimbazafy, enseignant retraité à l'E.S.S.A., pour son aide précieuse lors du traitement statistique des données d'enquêtes.
- Madame Marie Florentine Ravolasahondra, responsable de l'expérimentation des produits phytosanitaires dans la Direction des Protections des végétaux pour ses conseils lors de l'expérimentation et les enquêtes sur terrain.
- Monsieur Julien Razanakolona, responsable de la vulgarisation de l'apiculture, pour ses conseils.
- Monsieur Henry Rakotofiringa, Chef de production HASYMA, qui a bien voulu nous accueillir pour faire les études.
- Aux étudiants de l'ESSA que j'ai encadré, Madame et Messieurs : Eric Ramananarivo, Voahangisoa Rasamiarivony, Maolidy Ndriatokinanahary Soudjay et Solohery Rajoelisoa.
- Monsieur François Rakotomalala, Mesdames Marthe Razafinirinaarisoa, Jacqueline Ramananalisoa, SoloMamitiana Ranivoniaina et Nirilanto Ranivoarisoa pour leur dévouement et leur courage pour les installations et les différents entretiens des parcelles de choux.

- Monsieur André Rafalimanana et Madame Jeannette Rasoarivao qui nous ont donné leur accord pour que je puisse faire les expérimentations sur leurs parcelles.
- A tous ceux qui de près ou de loin m'ont soutenue pour leur patience et leur compréhension.
- Mes parents, mes sœurs, mes frères et Hery pour le soutien moral tout au long de ces trois années d'études.

Halitiana

Avant propos

Etant une nouvelle enseignante chercheur à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques à Antananarivo, responsable de la protection des cultures, j'ai souhaité une formation approfondie dans le domaine de l'écotoxicologie. J'ai pu bénéficier d'une bourse pour faire mon Diplôme d'Agronomie Approfondie (D.A.A.) à l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon, en 1997-1998. Mon stage de D.A.A. portait sur la caractérisation d'effets sublétaux d'un insecticide sur le comportement de recherche d'hôte par un insecte parasitoïde de Drosophile, et était co-encadré par Madame Laure Kaiser au Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (LNCI), INRA de Bures-sur-Yvette, et Monsieur Jean Marie Delpuech, CNRS, Université de Lyon. A l'issue de ce stage, j'ai voulu poursuivre en thèse et j'ai obtenu une bourse de thèse par alternance accordée par le Gouvernement français, représenté par l'EGIDE, de novembre 1999 à 2002. Concernant la thèse, le LNCI m'a accueillie pour étudier les effets létaux et sublétaux d'insecticides chez deux Hyménoptères auxiliaires de cultures : abeille et parasitoïdes de pucerons. Le sujet proposé par Mesdames Minh-Hà Pham-Delègue et Laure Kaiser répondait à la fois à mon objectif de formation à la recherche expérimentale et de connaissance et compréhension de certains problèmes phytosanitaires existant à Madagascar. J'ai effectué ma thèse à raison de six mois par an pour chaque pays. Elle répond à un double objectif :

- à Madagascar, évaluer les risques d'exposition aux insecticides, encourus par les abeilles et les insectes parasitoïdes de pucerons.
- en France, caractériser la toxicité létale et des effets sublétaux d'insecticides sur ces deux types d'insectes.

La partie malgache s'est déroulée à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, département Agriculture, Antananarivo et l'encadrement est assuré par Monsieur René Rabezandrina, enseignant à l'E.S.A. Les études sont réalisées en collaboration avec les différents organismes et sociétés œuvrant dans le développement agricole comme la Direction de la Protection des Végétaux, le Service de l'Apiculture (Direction du Ministère de l'Elevage), la société HASYMA, et le Projet Sud-Ouest (PSO). Cette partie repose sur des enquêtes, des observations et des expérimentations. Les régions concernées par cette étude sont Antananarivo (Alasora), Fianarantsoa (Ambositra, Fandriana, Ambatofinandrahana et Manadriana), Tuléar (Betioky Sud, Ankililoaka, Analamisampy, Miary et Mahaboboka).

L'identification des ennemis naturels des pucerons de choux que j'ai collecté à Madagascar, a été réalisée avec Monsieur Jean Michel Rabasse, UMR ROSE, l'INRA d'Antibes.

La partie française s'est déroulée au LNCI. De même que mon travail de stage de D.A.A, l'évaluation des effets sublétaux d'insecticides sur les parasitoïdes étudiés en thèse s'inscrivait dans un programme financé par l'appel d'offre PNETOX (Programme National d'Ecotoxicologie). Pendant les séjours au laboratoire, les thésards du laboratoire m'ont fait bénéficier de leur collaboration. Je pense particulièrement à Monsieur Nicolas Desneux pour les expérimentations sur parasitoïdes, à Monsieur Axel Decourtye pour les expérimentations sur les abeilles et à Monsieur François-Xavier Dechaume- Moncharmont pour des traitements statistiques.

Sommaire

Avant propos	7
Liste des figures	11
Liste des tableaux	13
Introduction	16

Première partie : Etudes de terrain sur les effets de traitements insecticides sur la faune auxiliaire à Madagascar : cas des abeilles et des parasitoïdes de pucerons

Chapitre 1 : Contexte socio-économique de l'agriculture et des problèmes phytosanitaires à Madagascar	22
1- Présentation de Madagascar	22
1.1- Géographie et climat	22
1.2- Population	24
1.3- Economie et agriculture	24
2- Place de l'apiculture dans l'économie malgache	25
2.1- Abeille malgache	25
2.2- Biologie	25
2.3- Flore mellifère	26
2.4- Conduite d'élevage	30
2.5- Production et commercialisation	31
2.6- Facteurs limitant de l'apiculture	32
3- Importance économique de l'agriculture	32
3.1- Principales cultures	32
3.2- Importance de l'agrumiculture	33
4- Problèmes phytosanitaires	35
4.1- Importance des ennemis de cultures	35
4.2- Importance des ennemis naturels des insectes ravageurs	40
5- Législation et utilisation des pesticides	42
6- Pratiques paysannes en matière de protection des cultures	44
7- Conclusion	46

Chapitre 2 : Analyse de l'impact de traitements phytosanitaires en agrumiculture sur l'apiculture	48
1- Introduction	48
2- Conduite d'élevage et pratique apicole	49
2.1- Catégories d'apiculteurs	49
2.2- Matériel apicole	49
2.3- Pratique apicole	52
3- Conduite culturale des agrumes	54
3.1- Installation du verger	54
3.2- Entretien divers	55
4- Présentation de la région d'étude	55
5- Méthodologie de travail	56
5.1- Principe	56
5.2- Paramètres quantifiés	56
5.3- Mode d'exploitation des données	57
6- Résultats d'enquête	58
6.1- Fréquences des différentes pratiques en apiculture et agrumiculture	58
6.2- Résultats d'analyse factorielle de correspondances	67
7- Discussion	73
8- Conclusion	76
Chapitre 3 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme de pucerons, en parcelles de choux, <i>Brassica pekinensis</i>	78
1- Introduction	78
2- Pucerons de choux et biologie	79
3- Présentation de la zone d'étude	80
3.1- Localisation	80
3.2- Climat	80
3.3- Situation économique	81
4- Analyse des pratiques paysannes en matière de protection des cultures maraîchères	81
4.1- Méthodologie	81
4.2- Analyse des itinéraires techniques	82
4.3- Importance des problèmes phytosanitaires	82

5- Inventaires des insectes auxiliaires de pucerons sur choux	83
5.1- Ennemis naturels des pucerons	83
5.2- Matériel et méthode	84
5.3- Résultats	85
5.4- Caractères distinctifs des auxiliaires	89
5.5- Conclusion	95
6- Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons, en parcelles de choux, <i>Brassica pekinensis</i>	96
6.1- Matériel et méthode	96
6.2- Résultats	98
6.3- Discussion	103
6.4- Conclusion	106
Conclusion de la première partie	107

Deuxième partie : Etude en laboratoire de la toxicité et effets comportementaux des insecticides sur un parasitoïde de pucerons, *Aphidius ervi*, et l'abeille domestique, *Apis mellifera*

Introduction	110
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les évaluations des effets toxiques sur abeille et parasitoïdes en conditions de laboratoire	112
1- Méthodes d'étude de la toxicité aiguë et leurs problèmes	112
1.1- Abeilles	112
1.2- Parasitoïdes	115
2- Méthodes d'étude d'effets comportementaux	116
2.1- Abeilles	116
2.2- Parasitoïdes	119
3- Conclusion	122
Chapitre 2 : Etude sur la toxicité aiguë chez <i>A. ervi</i> et <i>A. mellifera</i>	123
1- Présentation des insecticides retenus pour cette étude	123
1.1- Insecticides cholinergiques	124
1.2- Insecticides agissant au niveau des canaux sodium	126
2- Toxicité aiguë chez <i>A. ervi</i>	128
2.1- Principe	128

2.2- Matériel et méthode	128
2.3- Résultats de la toxicité aiguë	130
2.4- Discussion	132
3- Toxicité aiguë chez <i>A. mellifera</i>	134
3.1- Introduction	134
3.2- Evaluation de la toxicité aiguë d'après la méthode C.E.B. n°95	134
3.3- Comparaison de deux modes d'exposition par ingestion : collective et individuelle	141
3.4- Evaluation du phénomène de trophallaxie dans la distribution d'insecticide en ingestion collective	150
4- Conclusion du deuxième chapitre	154
Chapitre 3 : Effets comportementaux d'insecticides chez <i>A. ervi</i> et <i>A. mellifera</i>	156
1- Olfactomètre à quatre voies	157
1.1- Dispositif	157
1.2- Paramètres quantifiés et méthode d'analyse	159
2- Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive chez <i>A. ervi</i>	160
2.1- Principe	160
2.2- Matériel	160
2.3- Résultats	161
2.4- Discussion	164
3- Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive chez <i>A. mellifera</i>	167
3.1- Mise au point du test de comportement d'orientation olfactive	167
3.2- Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation de <i>A. mellifera</i>	171
4- Conclusion du troisième chapitre	178
Conclusion générale	179
Références bibliographiques	184
Annexes	202
Publications et colloques	206

Liste des figures

Figure 1 : Carte de Madagascar	23
Figure 2 : Répartition de végétation	29
Figure 3 : Quelques types de ruches malgaches	51
Figure 4 : Ruches modernes	52
Figure 5 : Différentes parties d'une ruche	52
Figure 6 : Nombre de ruches utilisées par les agriculteurs	58
Figure 7 : Types de ruches utilisées	58
Figure 8 : Mode de peuplement	59
Figure 9 : Importance des agriculteurs qui nourrissent leurs colonies	59
Figure 10 : Fréquence annuelle des récoltes de miel	60
Figure 11 : Destination du miel	60
Figure 12 : Importance de la culture d'agrumes et origine des jeunes plants	61
Figure 13 : Type d'alignement pratiqué et installation du verger	61
Figure 14 : Autres techniques culturales	62
Figure 15 : Entretien des vergers	62
Figure 16 : Niveau de connaissance des agriculteurs concernant les ravageurs, les maladies et leurs dégâts	63
Figure 17 : Moyens de lutte pour protéger les agrumes	63
Figure 18 : Fréquence des traitements pendant une campagne et respect des doses	64
Figure 19 : Critères pour déclencher le traitement et pour choisir l'insecticide	64
Figure 20 : Prise de précaution durant le traitement et généralisation du traitement phytosanitaire	65
Figure 21 : Effets du traitement des vergers sur les ruchers	65
Figure 22 : Avis des agriculteurs sur le traitement phytosanitaire et les raisons avancées pour ceux qui ne le pratiquent pas	66
Figure 23 : Motivation des gens pour adhérer à une association	66
Figure 24 : Plan 1 2 : Axe 1 horizontal Axe 2 vertical	67
Figure 25 : Plan 1 3 : Axe 1 horizontal Axe 3 vertical	68
Figure 26 : Plan 2 3 : Axe 2 horizontal Axe 3 vertical	69
Figure 27 : Site d'expérimentation situé à Alasora- Antananarivo	84
Figure 28 : Nombre de pucerons, d'Hyménoptères parasites et de prédateurs par pied en parcelle de chou	86
Figure 29 : Nombre de prédateurs actifs par rapport à la population de pucerons et taux de parasitisme	87
Figure 30 : <i>Aphidius sp</i> sur <i>M. persicae</i>	92
Figure 31 : Momies d' <i>Aphidius sp.</i> sur <i>Sitobion avenae</i>	94
Figure 32 : Un bloc présentant les parcelles élémentaires pour évaluer l'effet d'insecticide	97
Figure 33 : Effets d'insecticides sur la population de pucerons par pied de chou en 1999	98
Figure 34 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons parasités par des Hyménoptères, par pied de chou en 1999	99
Figure 35 : Effets d'insecticides sur la population de pucerons par pied de chou en 2001	100
Figure 36 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons parasités par des Hyménoptères, par pied de chou en 2001	101

Figure 37 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons par des Hyménoptères par pied de choux en 1999	102
Figure 38 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons par des Hyménoptères, par pied de choux en 2001	103
Figure 39 : <i>A. ervi</i> présentant un abdomen plié après 24 heures d'exposition au chlorpyrifos éthyl	132
Figure 40 : Dispositif expérimental de l'ingestion collective de matière active	142
Figure 41 : Dispositif expérimental de l'ingestion individuelle de matière active	142
Figure 42 : Effet dose du chlorpyrifos éthyl sur le taux de mortalité 24 heures après ingestion	146
Figure 43 : Effet dose de la deltaméthrine sur le taux de mortalité 24 heures après ingestion	147
Figure 44 : Taux de mortalité après 24 heures d'ingestion individuelle et ingestion collective de diméthoate	147
Figure 45 : Effets du chlorpyrifos éthyl et de la deltaméthrine sur la proportion d'abeilles donneuses ayant ingéré le sirop marqué et contaminé	152
Figure 46 : Effets du chlorpyrifos éthyl et de la deltaméthrine dans le phénomène de trophallaxie	153
Figure 47 : Olfactomètre à quatre voies	158
Figure 48 : Source d'odeur utilisée pour étudier le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	161
Figure 49 : Effets du chlorpyrifos éthyl sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	162
Figure 50 : Effets du pyrimicarbe sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	162
Figure 51 : Effets de lambda cyhalothrine sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	163
Figure 52 : Effets de deltaméthrine sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	163
Figure 53 : Comportement d'orientation olfactive de <i>A. mellifera</i> vis-à-vis de la phéromone royale	169
Figure 54 : Comportement d'orientation olfactive de <i>A. mellifera</i> vis-à-vis de l'odeur de leurs congénères	169
Figure 55 : Effets du chlorpyrifos éthyl sur les temps passés par les abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères	173
Figure 56 : Effets du chlorpyrifos éthyl sur les fréquences de visites des abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères	173
Figure 57 : Effets de la deltaméthrine sur les temps passés par les abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères	174
Figure 58 : Effets de la deltaméthrine sur les fréquences de visites des abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères	175
Figure 59 : Effets de la deltaméthrine sur les fréquences de visites des abeilles dans le champ odorant en réponse à l'odeur de leurs congénères	175

Liste des tableaux

Tableau 1 : Quantité de matières actives consommée à Madagascar en 1997	43
Tableau 2 : Insectes auxiliaires de pucerons de choux identifiés	88
Tableau 3 : Chronologie d'apparition des insectes auxiliaires de pucerons identifiés	88
Tableau 4 : Résultats d'analyse statistique des données d'observation du comptage de pucerons et des momies en 1999	100
Tableau 5 : Résultats d'analyse statistique des données d'observation du comptage de pucerons et de momies en 2001	102
Tableau 6 : Résultats d'analyse statistique du taux de parasitisme	103
Tableau 7 : Synthèse bibliographique sur les DL50 chez l'abeille	113
Tableau 8 : Synthèse des études faites sur les effets comportementaux d'insecticides chez l'abeille	118
Tableau 9 : Synthèse des études faites sur les effets sublétaux chez les parasitoïdes	120
Tableau 10 : Récapitulatif des DL 50 d'insecticides testés sur <i>A. ervi</i> 24 heures après traitement	130
Tableau 11 : Effets de doses croissantes des matières actives sur le taux de mortalité chez <i>A. ervi</i>	131
Tableau 12 : Quotients de risque pour les insecticides testés sur <i>A. ervi</i>	131
Tableau 13 : DL 50 par application topique et par ingestion collective d'insecticides testés sur les abeilles	138
Tableau 14 : Effets de doses croissantes des matières actives sur le taux de mortalité chez <i>A. mellifera</i>	138
Tableau 15 : Quotients de risque des deux pyrethrinoïdes chez <i>A. mellifera</i>	139
Tableau 16 : Valeurs des DL50 du chlorpyriphos éthyl et de la deltaméthrine administrés en ingestion collective ou individuelle	144
Tableau 17 : Probabilités obtenues après analyse de variance de la mortalité des abeilles en fonction du mode d'ingestion de chlorpyriphos éthyl et de la deltaméthrine	146
Tableau 18 : Analyse statistiques des pourcentages de mortalité après 24 et 48 heures d'ingestion individuelle et d'ingestion collective de diméthoate	148
Tableau 19 : Intervalle de confiance des doses de matières actives testées	150
Tableau 20 : Analyse statistique d'effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. ervi</i>	164
Tableau 21 : Analyse statistique des effets du chlorpyriphos éthyl sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. mellifera</i> vis-à-vis de l'odeur de congénères	174
Tableau 21 : Analyse statistique des effets de la deltaméthrine sur le comportement d'orientation olfactive de <i>A. mellifera</i> vis-à-vis de l'odeur de congénères	176

Introduction générale

Les insectes auxiliaires des cultures comprennent les pollinisateurs, en particulier l'abeille domestique *Apis mellifera* L., et les entomophages tels que prédateurs et parasitoïdes d'insectes ravageurs.

L'abeille a une importance économique et environnementale. En agronomie, la pollinisation assurée par les abeilles augmente le rendement qualitatif et quantitatif de nombreuses plantes cultivées (Free, 1970). En apiculture, on commercialise les produits de la ruche : le miel, la cire et la gelée royale principalement. Elle joue aussi un rôle sur le plan environnemental en assurant la pérennité de nombreuses espèces végétales sauvages. Par ailleurs, l'abeille présente un intérêt scientifique comme modèle d'étude en sociobiologie et en neurobiologie. Cependant, les abeilles peuvent entrer en contact avec des pesticides quand elles butinent dans des cultures traitées. On observe régulièrement des phénomènes d'affaiblissement de ruchers avec une diminution de l'activité sans que l'on ait pu observer la présence d'agents pathogènes (Faucon & Colin, 1983), entraînant des pertes de rendements en graines et une réduction de la miellée, associés à une accumulation de l'insecticide dans les réserves alimentaires de la ruche.

Parmi les entomophages, les pucerons, ravageurs très cosmopolites et dangereux par la transmission de viroses, subissent souvent un parasitisme important par des populations naturelles d'Hyménoptères (Cavalloro, 1982). Les parasitoïdes contribuent à limiter les pullulations des pucerons. Ainsi, des recrudescences de pucerons surviennent fréquemment à la suite de traitements insecticides, à cause de la plus grande sensibilité des insectes entomophages et de la résistance des pucerons aux insecticides utilisés (Waage, 1989).

On se sert largement des insecticides à Madagascar, où les insectes ravageurs pullulent plus rapidement, sans prendre en compte des risques écotoxicologiques jusqu'à présent, notamment envers les insectes auxiliaires des cultures. Plusieurs études portent sur les risques des insecticides pour les insectes prédateurs, mais aucune n'a été faite sur les parasitoïdes. La connaissance des risques reste très superficielle pour les insectes pollinisateurs. Une étude indique notamment la diminution de l'activité des abeilles dans une région Malgache traitée avec un acridicide (Tingle & Andrew, 1998). Le traitement intensif des criquets et les traitements phytosanitaires des arbres fruitiers pourraient avoir une grande influence sur le développement de l'apiculture à Madagascar.

Les risques écotoxicologiques sont pris en compte en Europe occidentale pour la protection de l'environnement et la santé humaine, et dans le cadre de la recherche de méthodes d'agriculture durable, parmi lesquelles figure la lutte intégrée, qui repose en partie sur la protection des insectes auxiliaires et leur utilisation en lutte biologique. En effet une standardisation des méthodes d'évaluation de la mortalité des insectes auxiliaires causée par des produits phytosanitaires fait l'objet d'études en France (Commission des Essais Biologiques, méthode n°95 (1996) ; Action de Coordination des Techniques Agricoles, Reboulet, 1994) ; et en Europe (SETAC guidance document, Barrett *et al.*, 1994 ; Candolfi *et al.*, 2000 a,b).

Jusqu'à présent les risques phytosanitaires pour les insectes auxiliaires sont évalués par la mortalité mesurée après exposition des insectes au laboratoire. Or il existe un décalage important par rapport aux risques d'exposition en conditions naturelles, où il existe des zones refuges et où le produit peut évoluer rapidement. Par ailleurs, des perturbations non létales peuvent réduire l'activité et la reproduction des insectes survivants (Belzunces *et al.*, 1988 ; Soderlund & Bloomquist, 1989 ; Migula *et al.*, 1990). On ne dispose pas dans la pratique de tests toxicologiques adaptés à l'évaluation d'effets sublétaux, notamment sur le comportement. La connaissance de tels effets fait défaut dans certaines décisions d'homologation, alors que la plupart des insecticides agissent au niveau du système nerveux. De plus, les études des risques phytosanitaires posés aux pollinisateurs et aux insectes entomophages sont traitées de façon indépendante, alors qu'il existe de nombreux traits communs, tant au niveau des risques d'exposition qu'à celui des réponses biologiques. Une étude comparée basée sur ces traits communs permettrait alors de faire émerger des **principes** généralisables aux deux types d'insectes, pour une caractérisation plus globale de la toxicité des produits.

Nous avons analysé les effets d'insecticides chez l'abeille et des Hyménoptères parasites de pucerons. La thèse en alternance à raison de 6 mois à Madagascar et 6 mois en France sur les trois années d'études, est subdivisée en deux parties, répondant à un double objectif :

- évaluer les risques d'exposition aux insecticides, encourus par les abeilles et les Hyménoptères parasites de pucerons, par des études de terrain à Madagascar.

- contribuer à la mise au point d'une procédure de tests de toxicité létale et sublétale en laboratoire, en France, première étape dans la démarche de prédiction des risques en conditions naturelles. Nous avons réalisé les tests sur les abeilles et le parasitoïde de pucerons, *Aphidius ervi* Haliday.

Les études de terrain sur les effets de traitements insecticides envers la faune auxiliaire se divisent en trois chapitres. Nous avons présenté l'analyse des résultats d'enquêtes faites auprès des différents agriculteurs, et des responsables du service de Phytopharmacie impliqués dans les problèmes phytosanitaires. Elles nous ont permis d'identifier les pratiques de traitements phytosanitaires à Madagascar.

Ensuite, nous avons analysé l'impact des pratiques paysannes en matière de protection des arbres fruitiers, sur l'apiculture. Pour ce faire, nous avons mené, le cas de la culture d'agrumes à Ambositra (300 km au sud d'Antananarivo), une enquête pour savoir si les traitements phytosanitaires représentent une entrave importante au développement de la filière apicole.

Enfin, nous avons évalué les effets de traitements insecticides sur les Hyménoptères parasites de pucerons, en parcelle de chou. De plus, nous avons fait l'inventaire des insectes prédateurs et parasites de pucerons pour estimer la diversité des espèces présentes sur cette culture.

Les études en laboratoire comprennent trois chapitres.

D'abord, nous avons présenté le contexte bibliographique sur les évaluations des effets toxiques sur abeille et parasitoïdes en conditions de laboratoire afin de situer les problèmes.

Ensuite, nous avons contribué à étudier la toxicité aiguë d'insecticides neurotoxiques chez le parasitoïde de pucerons et chez l'abeille. Les insecticides neurotoxiques peuvent perturber les fonctions sensorielles lors de la perception des signaux environnementaux (Matsumura, 1985). Nous avons recherché les effets de tels insecticides sur un comportement d'orientation olfactive. Les insecticides testés appartiennent à deux groupes différents suivant leurs principaux sites d'action (Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979) :

- deux pyréthrinoïdes, la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine, qui perturbent la fonction des canaux sodium lors de la transmission de l'influx nerveux

- un organophosphoré, le chlorpyrifos éthyl et un carbamate, le pyrimicarbe, qui inhibent l'action de l'acétylcholinestérase, enzyme responsable de l'arrêt de la transmission de l'influx nerveux au niveau de nombreuses synapses.

Pour le parasitoïde, nous avons utilisé l'exposition par contact tarsal, méthode recommandée pour évaluer la toxicité aiguë chez les Hyménoptères parasitoïdes. Chez l'abeille, nous avons utilisé la méthode standardisée : la méthode C.E.B. n°95 (Commission des essais biologiques). Du fait de la grande variabilité des valeurs de toxicité aiguë en ingestion chez l'abeille, nous avons comparé deux modes d'ingestion : individuelle et collective. Nous avons essayé d'expliquer les différences observées par l'importance du phénomène de trophallaxie dans la distribution d'insecticides, un des facteurs de variabilité.

Enfin, nous avons analysé les effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive chez *A. ervi* et chez l'abeille. Nous avons utilisé comme dispositif expérimental l'olfactomètre à quatre voies qui permet d'étudier le comportement ambulateur en réponse à une stimulation olfactive. Cet olfactomètre a été créé à l'origine pour l'étude de la reconnaissance des phéromones sexuelles chez les pucerons (Pettersson, 1970), et a ensuite été appliqué à l'étude de l'orientation olfactive chez des insectes parasitoïdes (Vet *et al.*, 1983 ; Kaiser *et al.*, 1989) et des abeilles (Pham-Delègue *et al.*, 1990 [a](#)).

Première partie :

**Etudes de terrain sur les effets de traitements
insecticides sur la faune auxiliaire à
Madagascar : cas des abeilles et des parasitoïdes
de pucerons**

Chapitre 1 : Contexte socio-économique de l'agriculture et des problèmes phytosanitaires à Madagascar

1. Présentation de Madagascar

1.1. Géographie et climat

Madagascar se situe à 400 kilomètres de la côte Est de l'Afrique et au Sud de l'équateur. L'île est séparée de l'Afrique par le Canal du Mozambique. Madagascar avec ses 587 000 Km² et ses 5 000 Km de littoral, constitue l'une des plus grandes îles du monde après Bornéo et l'Australie. L'île s'étend du Nord au Sud sur 1 580 kilomètres et d'Est en Ouest sur 500 km. Elle est organisée en 6 provinces (Figure 1), 111 préfectures, 1 250 communes et 13 476 villages (Ratsimiseta & Mathieu, 2000).

La côte orientale est le domaine de la forêt tropicale humide, constituée d'arbres à feuilles caduques et de quelques savanes. Les marécages et les lagunes se succèdent le long de la côte, qui fait face à l'archipel des Mascareignes. Le centre est la région des « Hauts plateaux » où se trouve la capitale, Antananarivo. Le Sud, le pays du baobab, est la région la plus désertique de la grande île, traversée par le tropique du Capricorne. La plaine de l'Ouest, la plus vaste, se caractérise par un climat asséché ; la côte y est plus découpée et borde le canal du Mozambique. Le Nord, caractérisé par la Baie d'Antsiranana (Diégo-Suarez) dominée par la montagne de Tsaratanana, point culminant de la grande île (2 876 m), est recouvert d'une forêt. Enfin, quelques îles et îlots entourent la grande terre comme au Nord-Ouest : Nosy Be, Nosy Komba et Nosy Tanykely et à l'Est : île Sainte Marie.

Deux courants aériens déterminent le climat à Madagascar : l'alizé qui souffle en permanence sur le versant oriental et la mousson qui domine la partie Nord- Ouest de l'île d'octobre en avril. Le Sud- Ouest qui n'est touché ni par l'alizé ni par la mousson, a un climat sub-désertique. La zone de convergence intervient entre les mois de décembre à avril et apporte beaucoup de pluies. Il y a deux saisons : l'hiver, de mai à septembre et l'été qui arrose le pays de novembre à avril. En pleine saison chaude, la température maximale est de 33°C alors qu'en plein hiver, la température gravite autour de 5°C.

Figure 1 : Carte de Madagascar

1.2. Population

Les Malgaches sont d'origine Malaisienne, Indonésienne, Polynésienne, Arabe ou Africaine. Madagascar compte actuellement 15 millions d'habitants avec un rythme de croissance de 3,2 %. Soixante quinze pour cent de la population est rurale et vit sous le seuil de pauvreté (Ratsimiseta & Mathieu, 2000).

Le malgache est la langue officielle. Il existe quelques variantes dialectales utilisant des expressions particulières propres à certaines régions. Les accents varient aussi entre les différentes régions. Le français est largement compris.

1.3. Economie et agriculture (INSTAT, 1997)

La majorité des malgaches étant des ruraux, il n'est pas surprenant de constater que l'économie repose essentiellement sur la production et l'exportation agricole. Le produit National brut est de 3,7 milliards de US\$.

L'industrie contribue pour 13,3 % du PIB, emploie plus de 95 000 personnes et assure 38 % des exportations. L'industrie comprend essentiellement l'agro-alimentaire (conserves, boissons, produits de charcuterie, lait, sucre), le textile et le bois. Le niveau de l'industrialisation est relativement faible. En effet, un retard technologique persiste mais est en voie d'amélioration.

La pêche crevettière représente environ 12 % des exportations, et occupe la deuxième place, après la vanille, dans les produits malgaches les plus pourvoyeurs de devises.

La production animale malgache rencontre des difficultés dues à la présence des maladies comme le charbon bactérien et la douve du foie. Le principal obstacle à l'accroissement de la production est l'insuffisance de la protection sanitaire (vaccin et produits de déparasitage). L'ensemble des activités de l'élevage est réparti en bovins, porcins, ovins et volailles. L'élevage de bovin est la branche la plus importante des productions animales avec 12 000 000 têtes. L'élevage porcin est en nette régression depuis l'apparition de pestes porcines africaines en 1999. Les élevages ovin et caprin sont peu importants et restent traditionnels. L'élevage avicole est en très nette progression grâce au développement de l'élevage industriel. L'exportation de viandes reste insignifiante. L'apiculture longtemps demeurée traditionnelle commence à se développer, mais les statistiques d'exportation de miel ne montrent que des quantités infimes.

L'agriculture contribue pour 38,4 % du PIB et 80 % des exportations. Elle demeure marquée par un système d'exploitation de type familial de très petite taille. La plupart des agriculteurs exploitent une superficie moyenne de 1 ha.

2. Place de l'apiculture dans l'économie malgache

2.1. Abeille malgache

Madagascar n'abrite qu'une seule variété d'abeille : *Apis mellifica unicolor* (Hyménoptères- Apoidea). Elle est de petite taille, de couleur noire, à faible pilosité, très active et douce (Jean- Prost, 1987 ; Douhet, 1962), ce qui facilite son élevage (la capture, l'appivoisement et les interventions diverses). On lui reproche pourtant de ne pas être stable : essaimages répétés et tendance même à l'abandon du nid qui semble être lié à la petite taille du rucher. La variété unicolor est également connue dans les Mascareignes (îles de La Réunion et Maurice) (Douhet, 1962).

Madagascar bénéficie d'un climat tropical qui n'entrave en rien le travail des butineuses tout au long de l'année (Razafindrakoto, 1979). L'absence de maladies contagieuses est également un atout considérable pour l'apiculture (Andriatsarafara, 1988).

2.2. Biologie

L'abeille est un insecte eu- social qui est défini selon trois critères : une coopération entre les individus adultes dans l'entretien du couvain, une présence simultanée d'au moins deux générations d'adultes et l'existence d'une division reproductible du travail (Wilson, 1971). Les abeilles sont organisées selon une structure sociale bien établie, constituée de trois castes : les ouvrières, la reine et les faux-bourçons. Une colonie d'abeilles peut comprendre en été jusqu'à 60 000 individus auxquels s'ajoute le couvain. Cette population est formée de 95 % d'ouvrières, qui ne s'accouplent pas et ne pondent pas tant que la reine est vivante, et à 5 % d'individus sexués, les faux-bourçons. La répartition des individus en castes s'associe à des différences anatomiques, physiologiques et comportementales bien définies (Seeley, 1995).

Les ouvrières accomplissent différentes tâches en fonction de leurs âges. Après le nettoyage des alvéoles qui accueilleront les œufs ou la nourriture, les glandes mandibulaires des ouvrières se développent, et leur sécrétion, la gelée royale, permettra de nourrir les jeunes

larves et la reine. Puis, les glandes mandibulaires de l'ouvrière s'atrophient, tandis que les glandes cirières se développent dans l'abdomen pour sécréter de la cire et aider à la construction des différents rayons. Une fois ses glandes cirières atrophiées, l'abeille a pour fonction de récupérer par trophallaxie le nectar récolté par les butineuses avant de le stocker dans les alvéoles de cire. Les ouvrières âgées plus de une semaine, deviennent gardiennes, et doivent repousser les attaques et les éventuels pillages d'autres insectes ou abeilles étrangères. Cette tâche leur permet de sortir de la ruche et de faire quelques repérages autour de la colonie. C'est à ce moment, qu'elles apprennent à reconnaître la ruche et son environnement et à s'orienter selon les mouvements du soleil qui va leur permettre d'accomplir leur dernière tâche de butineuses (Seeley, 1995).

2.3. Flore mellifère

2.3.1. Situation générale

Autrefois, Madagascar était recouvert d'une forêt dense. La forêt était défrichée selon les besoins de la population et plus de 30 % de la forêt s'est dégradée en savane arbustive (savoka). Il n'en reste plus guère maintenant que 8 millions d'hectares environ (Fert, 1999). La forêt fournissait le bois de chauffage et de construction. Les cultures sur brûlis accélèrent la déforestation. La forêt fut aussi utilisée d'une manière industrielle qui dépassait les besoins de la population locale (Kölbl, 1992). L'île possède une grande variété d'essences mellifères et chaque arbre fleurit au moins une fois par saison (Andrianaivo, 1983). Les ressources florales souffrent d'une déforestation incontrôlée et privent les abeilles d'une grande source de nectar et de pollen.

Le domaine reboisé est restreint à 150 000 ha d'Eucalyptus. La création d'aires protégées constituées de 2 Parcs Nationaux, 11 Réserves Naturelles Intégrales et 23 Réserves Spéciales ayant une superficie totale de 1 045 865 ha, soit 1,8 % du territoire national (Nicoll & Langrand, 1989), n'a pas résolu le problème de la déforestation.

2.3.2. Répartition de la végétation

Madagascar montre de grandes différences régionales qui sont surtout dues au climat et à la topographie. Les fleurs mellifères se rencontrent en quantité variable durant toute l'année. En gros, on peut distinguer cinq grandes zones suivant le type de flore mellifère (Figure 2) :

- le haut plateau jouissant d'un climat tempéré, est presque entièrement déboisé. Les flancs des collines utilisés comme pâturage pour les bovins sont régulièrement brûlés. *Brachylaena ramiflora* (Astéracées)(Hazotokana), un arbre très florifère, a pu se conserver dans quelques villages grâce à sa résistance particulière aux divers feux de brousse (Kölbl, 1992 ; Ramamonjisoa, 1992). A cause de feux réguliers auxquels la formation herbacée est soumise, les légumineuses ont disparu au profit des graminées.

Dans les dépressions humides, près des sources ou dans les talwegs, la flore varie un peu plus et les arbustes ont pu alors constituer des bosquets abritant quelques plantes spontanées plus ou moins florifères. Sur les talus herbeux, sur le bord des routes et des sentiers, on rencontre quelques légumineuses buissonnantes comme : *Crotalaria fulvia* L., *Indigofera erecta* Hochst, *Mundulea suberosa* (DC) Benth, *Desmodium heterophyllum* Desve. Dans les décombres, près du village, on rencontre fréquemment le laiteron (*Sonchus oleraceus* L. (Compositae)) et le pissenlit dent de lion (*Taraxacum officinale* Wigg (Compositae)). Dans les zones protégées par les feux, on rencontre *Nicodemia madagascariensis* Ten. (seva) (Loganiaceae) et *Caesalpinia decapitala* (Roth) Alston (tsiafakomby) (Leguminosae), qui fleurissent de mai à août. On trouve aussi *Aphloia theiformis* Bennett (Voafotsy) (Flacourtiaceae), *Helichrysum* Miller (Rambiazina) (Compositae) et *Psidia altissima* Jacq (dingadingana) (Compositae) qui fleurissent de septembre à octobre.

On mène différents essais de reboisement des collines avec toutefois un succès très variable. La végétation se caractérise par les cultures vivrières, les cultures maraîchères et les reboisements constitués principalement par les Eucalyptus (principalement *Eucalyptus robusta* Sm., *Eucalyptus rostrata* ou *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae)) et les arbres fruitiers. La floraison des Eucalyptus d'avril à octobre correspond à la période de grande activité pour les abeilles. Le mimosa (*Acacia pervillei* Miller (Leguminosae)) s'y ajoute mais sa floraison n'est que de très courte durée (juillet - septembre). Les abeilles

visitent et retirent aussi un miel délicieusement parfumé sur les arbres appartenant à la famille des Myrtacées et au genre *Eugenia* L. (rotra), qui fleurissent en décembre - janvier.

Les arbres fruitiers moins nombreux, offrent donc une moindre ressource. Les rosacées fruitières commencent à fleurir dès la fin du mois de juillet avec les pêchers précoces de la variété Pento, puis en septembre et octobre avec les variétés françaises plus tardives. Peu après, les pruniers et les pommiers donnent à leur tour des fleurs qui peuvent être encore butinées par les ouvrières avant l'arrivée des grandes pluies. Le manguier (*Mangifera indica* L. (Anacardiaceae)), le plaqueminier (*Diospyros kaki* L. (Ebenaceae)) fleurissent en août et septembre. Les fleurs de papayer n'apparaissent qu'à la fin de la saison chaude. Les abeilles peuvent recourir aux autres cultures ou aux mauvaises herbes pour subvenir à leurs besoins durant les mois où l'Eucalyptus et le mimosa ne fleurissent pas.

- la Côte Est et la Côte Nord-Est où la température reste très élevée, sont constituées par les forêts autochtones et les cultures de rente. Elles possèdent encore des zones relativement denses en forêt. Pour la production des essences mellifères forestières, le molanga, *Croton goudotii* L. (Euphorbiaceae), le lalona, *Weinmania spp.*L. (Cunoniaceae) et le harongana, *Harunga madagascariensis* Lam. (Guttiferae) prédominent. Ces arbres fleurissent d'octobre à décembre. Les cultures de rentes constituent d'excellentes plantes mellifères comme les caféiers, *Coffea robusta* L. (Rubiaceae), les girofliers, l'Ylang-Ylang (*Cananga odorata* (Lam) Hook.f. & Thomson (Annonaceae)), les cacaoyers (*Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae)), les vanilliers (*Vanilla planifolia* Jakson (Orchidaceae)), le litchi, *Nephelium litchi* ou *Litchi javensis* Leenh (Java & Chinensis) (Sapindaceae), et les bananiers (*Musa spp.* L. (Musaceae)) produisent également une abondante miellée. En outre, des espèces d'ombrage (*Albizia spp.* Benth, *Sesbania spp* Scop (Leguminosae)), des plantes de marécages (*Melaleuca viridiflora* L. (Myrtacées) « Niaouli ») fournissent du nectar.

Le long de la ligne ferroviaire entre Antananarivo et Toamasina, des peuplements étendus d'Eucalyptus ont été plantés à l'époque coloniale pour les besoins des chemins de fer. Aujourd'hui, ces peuplements servent à fournir essentiellement la capitale en charbon de bois (Kölbl, 1992).

- les zones Sud et la côte Ouest se caractérisent par les forêts rabougries, les ricins subspontanés des légumineuses mellifères (*Tamarindus indica* L. (Cesalpinoideae)). Les bas fonds le long des cours d'eau montrent des peuplements de manguiers dont on connaît la

valeur mellifère. Comme plante cultivée, on trouve les cotons et les cultures vivrières constituées principalement de riz et de maïs.

Figure 2 : Répartition de la végétation (Kölbl, 1992)

Le Sud malgache n'est qu'une immensité désolée, presque sans eau, traversée de montagnes, sans autre végétation que des plantes xérophytes et des baobabs (*Adansonia digitata* L.).

- La région Ouest est largement déboisée et montre une très forte érosion. Des peuplements forestiers connus ne se trouvent que le long de la côte. Par contre, la région méridionale est extrêmement sèche et à peine boisée à l'exception de quelques forêts de galeries et des surfaces étendues du bush (Kölbl, 1992). L'analyse pollinique du miel montre la présence de pollen de «palissandres» ou *Dalbergia* L.f et de Graminées (Ramamonjisoa, communication personnelle). Les analyses polliniques montrent l'importance des différentes espèces de *Dalbergia* (*D. trichocarpa* L.f, *D. pervillei* L.f (Leguminosae)) comme plantes mellifères auxquelles s'ajoutent d'innombrables espèces de légumineuses : *Albizia* spp., *Acacia* spp., *Caesalpinia* spp. L.. Des formations secondaires à *Ziziphus* spp. Miller (Rhamnaceae) principalement et des mangroves (*Avicennia marina* L. (Verbenaceae)) constituent des sources potentielles d'excellents miels.

2.4. Conduite d'élevage

Les zones d'intérêt apicole reconnues à Madagascar du fait de l'abondance des plantes mellifères sont Ambositra, Fianarantsoa, Manjakandriana (Haut-plateau), Toamasina (Côte-Est) et Mahajanga (Côte Nord- Ouest) (Ramamonjisoa, 1992). Mais, l'apiculture se pratique dans toutes les provinces de l'île (Douhet, 1962 ; Ranoromalala & Rabemananjara, 1998).

L'apiculture à Madagascar est encore basée sur une conduite d'élevage traditionnelle. Le niveau de vie ne permet pas de pratiquer des techniques modernes. Les autres problèmes, notamment la difficulté d'approvisionnement en essaims, l'instabilité des colonies apprivoisées et l'irrégularité des débouchés, s'y ajoutent.

Peu d'études ont porté sur l'abeille malgache tant du point de vue écologique qu'au niveau du comportement. Les efforts d'amélioration génétique n'existent pas réellement.

Des textes législatifs relatifs à l'apiculture datent des années soixante. Ces textes visaient essentiellement à supprimer la falsification causant l'arrêt des exportations en 1950, et à organiser la collecte et à améliorer les modes d'extraction du miel en vue de son exportation

et du conditionnement de la cire. Divers points n'ont pas été traités comme : les conditions d'implantation des ruchers, l'appropriation des essaims, la transhumance, les indemnisations et dédommagements en cas d'attaques des colonies, la fiscalité, les mesures destinées à promouvoir l'expansion de l'apiculture et les mesures pour lutter contre les maladies contagieuses et le règlement du commerce à l'intérieur du territoire malgache.

2.5. Production et commercialisation

On ne peut pas déterminer d'une manière précise la production apicole nationale car la plupart des produits découlent de la cueillette. De plus, l'utilisation et la destination de ces produits sont extrêmement diversifiées.

Madagascar produit essentiellement du miel et de la cire. Le pollen n'est pas encore exploité ou commercialisé à Madagascar, ni la propolis, bien que l'abeille malgache en produise beaucoup.

Les procédés de récolte varient suivant la nature de la ruche. La récolte de miel sur les ruches traditionnelles favorise l'abandon de la ruche, surtout au moment de la floraison des essences de la forêt. L'absence de séparation entre la réserve en miel et le couvain, incite l'apiculteur à ~~détruire le couvain en prélevant les~~ prélever du miel dans les rayons de couvain contenant du miel dans leur partie supérieure. De plus, l'apiculteur ne laisse aucune provision à l'essaim pour la mauvaise saison.

Pour les ruches à cadres, l'utilisation de hausses permet d'exploiter les cadres de réserves et laisse ainsi intacte le corps de ruche, avec ses cadres de couvains et ses provisions. La population de la colonie peut alors s'y maintenir.

Si l'année est bonne, la récolte est réalisée 2 à 3 fois par an. Cependant, les apigculteurs récoltent même si des rayons ne sont pas encore pleins, par conséquent la production baisse progressivement.

Pour la ruche traditionnelle, la production varie de 8 à 10 kg de miel avec la cire suivant la taille de la ruche ; pour la ruche à barrettes, sans hausse, elle est de 10 à 12 kg et pour la ruche à cadre, elle est de 20 à 25 kg de miel avec la cire.

L'extraction de miel se fait le plus souvent par simple pression à la main des morceaux de rayons non trié. Le miel est filtré au moyen d'une « soubique » (sac de paille tressée). Il est mis ensuite dans une bouteille. Le produit obtenu provenant des morceaux de rayons non trié et d'une filtration aléatoire, n'est pas pur et est instable.

Concernant la commercialisation, les statistiques d'exportation de miel malgache ne montrent que des quantités minimales à titre d'échantillonnage vers la France, l'Espagne et la République Fédérale d'Allemagne. Quant à la cire, elle constitue la grande source de devises, et a déjà des clients fidèles tels que le Royaume- Uni, l'Allemagne et la France. En 1991, le prix de la tonne de cire à destination de la France était de 19 000 FF (Ministère des Statistique : INSTAT,1997).

2.6. Facteurs limitants de l'apiculture

La marginalisation de l'apiculture, la non maîtrise des techniques nécessaires à l'exportation des produits, la destruction de l'environnement et la disparition progressive des abeilles sauvages par la pratique des feux sauvages, freinent le développement de l'apiculture à Madagascar. De plus, la filière apicole malgache ne connaît pas un essor considérable.

Des traitements excessifs, en particulier des champs mellifères, et/ou des pollutions accidentelles entraînent un abandon progressif des ruches et provoquent même la disparition des colonies. Les effets des traitements phytosanitaires passent souvent inaperçus aux yeux des apiculteurs non avertis. C'est le cas par exemple d'une intoxication des abeilles par un organophosphoré constatée dans la région d'Antananarivo entre le mois de septembre et octobre 2000. La Direction de la Protection des végétaux a détecté une trace de 0,08 à 1,13 mg/kg de parathion- méthyl sur les échantillons d'abeilles mortes, ce qui est supérieur à la DL50 de l'abeille par contact (3,38 ng/abeille).

3. Importance économique de l'agriculture

3.1. Principales cultures (INSTAT, 1997)

Les Malgaches cultivent notamment :

- du riz qui occupe une surface totale de 1 200 000 ha avec un rendement moyen de 2 T/ha (soit 45 % du tonnage de la production agricole),

- des cultures vivrières comme le manioc, les pommes de terre, le maïs, l'arachide et les fruits et légumes (cornichons, haricot vert, choux...). On trouve pratiquement tous les fruits tropicaux (litchi, ananas, bananes, mangues, ananas, agrumes...) et des fruits tempérés (fraises, pommes, pêches...). La culture maraîchère est la principale activité des agriculteurs, installée à la périphérie des grandes villes, ce qui leur assure une source de revenus réguliers. L'agrumiculture procure aux agriculteurs un revenu important. Elle valorise des terres peu ou non cultivées. La production, en majorité issue des peuplements naturels, s'élève à 5 500 à 6000 tonnes de citrons en 2002.

- des cultures industrielles comme la canne à sucre (Toamasina et Antsiranana), la vigne (Fianarantsoa), le sisal (Sud, Ford-Dauphin), le coton (Tuléar et Mahajanga), le cacao, les plantes à huiles essentielles (ylang-ylang, palmarosa, géranium, niaouli, hélichryse...). Nous voudrions souligner l'importance de la culture de coton qui occupe une superficie de 27 000 ha environ avec un rendement moyen de 1,15 T/ha en 1997 (Andriambololona *et al.*, 1997).

- des cultures destinées à l'exportation, comme le café, la vanille (Nord-Est, Antalaha capitale mondiale de la vanille), ou le girofle (Est, Toamasina).

3.2. Importance de l'agrumiculture

Les cultures fruitières prennent une part importante dans la production agricole de Madagascar (Appert, 1972). Outre l'insuffisance de technicité et la mauvaise conduite des arbres fruitiers par les agriculteurs, les cultures fruitières sont sous la menace permanente des maladies et des ravageurs, et bon nombre de facteurs favorisent leur développement. Les ennemis des cultures constituent une barrière pour la promotion de la culture fruitière à Madagascar.

L'agrumiculture s'adapte très bien dans deux régions bien distinctes : les Hautes Terres pour les oranges destinées à ravitailler les marchés européens, et les régions basses côtières en particulier le Sud et l'Ouest pour la production d'oranges de transformation.

3.2.1. Intérêt de la culture d'agrumes et variétés cultivées

Les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées, du genre *Citrus*. On peut produire : le citron (*Citrus limon* (L.) Burm.f.), la lime ou citron vert (*Citrus aurantiifolia*

(Christm)), la mandarine (*Citrus deliciosa* ou *Citrus reticulata* Blanco), le pamplemousse (*Citrus maxima* (Burm)), le pomelo (*Citrus paradisi* Macfad), l'orange (*Citrus sinensis* L.), la combava (*Citrus hystrix* DC (Mal)), et des hybrides.

Les agrumes fructifient pendant les mois de juin à août, pendant lesquels les pays agrumicoles de l'hémisphère Nord n'alimentent pas les grands marchés européens. Madagascar exporte environ 3,7 tonnes d'oranges, 600 kg de citrons et de limes et 80 kg environ des huiles essentielles de citrons (INSTAT, 1997). La plupart des vergers associent souvent des orangers et des mandariniers.

3.2.2. Importance de la pollinisation dans la production de fruit

Ce paragraphe se réfère à des études faites en Europe car nous n'avons pas trouvé de bibliographie qui mentionne le rôle de l'abeille dans la production de fruits à Madagascar.

Les fleurs de *Citrus* produisent un abondant nectar ; certaines fleurs contiennent en moyenne 20 µl de nectar. Par contre, les fleurs ne sont pas considérées comme une bonne source de pollen (Pouvreau, 1984 ; Crane & Walker, 1984).

La floraison est très abondante, on compte plus de 60 000 fleurs sur un oranger. Elle est suivie d'une chute très importante affectant d'abord les boutons, puis les fleurs épanouies et se poursuivant après la nouaison. Il est apparu que la proportion de fleurs donnant des fruits atteignant la maturité était extrêmement faible, d'autant plus faible que la floraison est plus abondante, 1 % de 60 000 fleurs suffisent à assurer une récolte de 100 kg par arbre (Pouvreau, 1984).

Les fleurs de *Citrus* sont visitées par de nombreux insectes (thrips, acariens, hyménoptères, diptères, lépidoptères, coléoptères) ; mais l'abeille domestique est l'insecte pollinisateur le plus abondant. Les abeilles récoltent soit le nectar, soit le pollen, soit les deux. Chaque visite sur une fleur dure 15 à 20 s pour les butineuses de nectar, et 5 à 8 s pour les

butineuses de pollen. Les butineuses recueillent le nectar sans toucher en général aux étamines ; elles butinent plutôt le matin que l'après-midi et leur nombre, plus important, reste constant entre 9 et 15 heures (Pouvreau, 1984).

L'importance de la pollinisation varie entre les différentes espèces et cultivars. La mise à fruits des clémentines, des limes, de la bergamote et de certains cultivars d'oranges, peut s'effectuer de manière parthénocarpique en l'absence de pollinisation. Certains cultivars n'acceptent pas le pollen d'autres cultivars. Pour ceux qui en ont besoin, la pollinisation croisée réduit d'une manière significative la chute des fruits immatures (exemple : l'absence de pollinisation constitue généralement un handicap pour la nouaison du fruit de citron). La visite des Apoïdes sur les fleurs de certaines espèces d'agrumes (oranges, clémentines, lime, citron) entraîne une augmentation de la production de fruits, du poids des fruits, de la production de jus de fruits et du nombre de graines par rapport à des arbres d'où les insectes sont exclus (Pouvreau, 1984).

4. Problèmes phytosanitaires

L'expansion économique de Madagascar repose sur le développement de l'agriculture. L'agriculture souffre de différents types de problèmes : au niveau technique, le système de culture en général reste traditionnel et ne permet pas aux agriculteurs de gérer l'attaque des ennemis de cultures. L'amélioration de la productivité de chaque agriculteur est un problème urgent pour éviter la famine.

Depuis quelques années, des efforts de coopération sont menés dans le secteur agricole. Cependant, on n'a pas encore constaté d'amélioration. L'analyse des problèmes phytosanitaires est un des principaux facteurs qui permet d'améliorer la productivité à Madagascar. La protection des végétaux contre l'attaque des ennemis des cultures permet d'accroître les rendements et d'améliorer la qualité des denrées alimentaires.

4.1. Importance des ennemis des cultures

Toutes les cultures malgaches sont soumises aux attaques des nuisibles. Leurs déprédateurs sont nombreux et appartiennent aux divers embranchements, tels que les Nématelminthes, dont les nématodes qui sont les plus redoutables, les Mollusques parmi

lesquels on trouve les escargots et les limaces généralement très polyphages, les Arachnides représentés par les acariens phytophages, et enfin les Insectes qui sont de loin les plus importants. Par ailleurs, les cultures sont aussi sujettes aux affections parasitaires comme les mycoses, les bactérioses et les viroses.

Les insectes causent plus de dégâts que les autres déprédateurs. Leur agressivité varie d'une culture à une autre. Malgré un climat chaud et humide de la côte orientale, favorable à la culture du poivrier et au développement des insectes nuisibles, le degré d'infestation reste globalement faible. Par contre, dans la région de Sud-Ouest, le criquet migrateur ainsi que les ravageurs du cotonnier entraînent des pertes considérables nécessitant des traitements.

4.1.1. Cas du criquet migrateur

Les sauterelles, *Locusta migratoria* Capito Saussure est l'espèce la plus redoutable dans sa phase grégaire à cause de son importance numérique, sa capacité de se constituer en essaim et sa voracité. Elle est déclarée comme calamité publique depuis 1947. En cas d'invasion généralisée, elle peut envahir les trois quarts du pays. Le passage d'essaims denses d'ailés laissent derrière eux le spectre de la famine (le cas de l'invasion 1995-1999 a entraîné des pertes de récoltes considérables ; la perte de récolte pendant la campagne 1996/97 est évaluée à 31,8 % pour le riz, 60,1 % pour le maïs et 29,7 % pour les patates douces). Le criquet n'attaque pas le littoral Est très humide.

Ce criquet reste dans le Sud-Ouest de l'île pendant toute l'année. L'aire grégarigène du criquet migrateur, délimitée en 1969 entre les fleuves Onilahy et Mandrare, et entre le delta de Fiherenana et de Manombo, qui couvre 60 000 km², reste encore valable. Il est difficile de l'éradiquer à cause des faits suivants :

Sous l'influence de changements dans son environnement, le criquet migrateur subit des modifications comportementales, physiologiques et morphologiques, et passe de la phase solitaire à la phase grégaire et inversement. Le changement de phase n'est pas possible durant une seule génération. Il faut au moins 2 générations pour que des criquets passent de la phase solitaire à la phase grégaire et inversement. L'espèce peut traverser la mauvaise saison soit sous forme d'adultes disséminés dans la brousse, soit sous forme de pontes déposées dans le sol et à l'état de diapause hivernale. Pour une saison chaude normale, l'insecte peut avoir deux générations. Mais une longue période de pluies régulièrement distribuées offre aux insectes la possibilité d'avoir dans l'année une ou deux générations supplémentaires.

Malgré l'important développement de la recherche en matière de lutte biologique au cours de ces dernières années, l'utilisation de produits chimiques demeure encore, et de loin, la principale arme dans la lutte contre les criquets. On doit intervenir dès qu'un rassemblement ou des bandes larvaires sont observés. La campagne antiacridienne normale s'étend d'octobre à mai. En période d'invasion, on traite par voie aérienne (en couverture totale ou en barrière) des milliers d'hectares pendant au moins deux ans.

La plupart des insecticides utilisés appartiennent au groupe des organophosphorés (fénitrothion, chlorpyrifos-éthyl, chlorpyrifos méthyle, diazinon, phoxim, profenophos, pyridaphenthion), des carbamates (propoxur et carbosulfan), des pyréthrinoïdes (lambda cyhalothrine et deltaméthrine) seuls ou en association avec des organophosphorés et des dérégulateurs de croissance (triflubenzuron et diflubenzuron).

En 1995, les criquets migrateurs ont envahi une superficie d'environ 2 millions d'hectares localisés dans leur aire de multiplication dans le Sud/Sud-Ouest. Pour maîtriser la situation et éviter une invasion généralisée, les responsables de la lutte antiacridienne ont mené une lutte intensive jusqu'à la campagne 1998. Cependant, il est difficile d'avoir des informations sur la quantité d'insecticide épandu lors des invasions de criquet. De plus, le risque d'exposition des insectes auxiliaires à des insecticides et les effets de dérive sont grands. En effet, le traitement contre les insectes migrateurs dans le Sud-Ouest, où il est réalisé sur des milliers d'hectares, fait se plaindre les apiculteurs des régions d'Ambositra jusqu'à Ambatolampy, du fait de la diminution, voire même de la disparition de leurs ruches comme cela a été le cas en 1999. Il est à noter qu'aucune analyse des résidus sur les abeilles mortes et sur le miel n'a été faite.

4.1.2. Ravageurs du cotonnier

La culture de coton occupe une superficie de 27 000 ha environ avec un rendement moyen de 1,15 T/ha (1997). Les attaques conjuguées des insectes ravageurs rendent la culture cotonnière impossible, sans recours à une mesure de lutte. Durant la campagne 1997/98, les essais menés par la société HASYMA assurant la vulgarisation de la culture de coton dans les différentes zones cotonnières ont montré que si le cotonnier n'est pas traité, les pertes moyennes sur la récolte sont évaluées à 91 %. Des mauvais traitements seront inéluctablement sanctionnés par une perte de production (Andriambololona *et al.*, 1997).

Heliothis armigera (Hubn.) (Lépidoptère- Noctuidae), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptère-Homoptère-Aphidae) et *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lépidoptère- Noctuidae) constituent les principaux ravageurs de la culture cotonnière. Les observations régulières réalisées sur plusieurs années dans la région du Sud-Ouest, mettent en évidence que les dégâts causés par *H. armigera* restent depuis longtemps les plus importants. Le puceron *A. gossypii* constitue le deuxième ravageur le plus redoutable de la région. Et, inversement au Nord-Ouest le puceron constitue le ravageur le plus important, suivi de *H. armigera*.

Résultant d'une utilisation excessive et irraisonnée des insecticides, le puceron *A. gossypii* est devenu un des ravageurs importants de la culture cotonnière. L'annihilation systématique des insectes auxiliaires fut probablement la cause de l'accroissement des populations de *A. gossypii* depuis la fin des années 1980 (Dove, 1994).

La société HASYMA, a établi un programme de traitement selon la date d'apparition de la virulence de ces insectes, en essais pluriannuels réalisés dans diverses stations d'expérimentation. Cela a permis de réduire le nombre de traitements. En effet, le nombre de traitements est passé de dix en 1986 à six en 1996. Actuellement, la lutte contre les ravageurs est orientée vers la mise en œuvre d'une lutte intégrée (Rakotofiringa, 1997).

4.1.3. Ravageurs en agrumiculture

De nombreux ravageurs et maladies attaquent les vergers d'agrumes à Madagascar. La mouche des fruits, *Ceratitis malagassa* Munro, reste un grand problème ; d'autres, comme la gommose des agrumes, peuvent conduire au dépérissement de l'arbre et la tristeza, une virose, est difficile à éradiquer (Meurillon, 1989 a; Grisoni, 1993).

* Principaux ravageurs d'agrumes (Meurillon, 1989 a)

Les principaux ravageurs d'agrumes sont nombreux, et leur importance économique varie suivant les espèces.

- Les acariens, *Hemitarsonemus latus* (Banks) (Arachnides- Tarsonemidae) entraînent une déformation des feuilles. Sur les fruits de citronnier, on observe des taches argentées.

- Les insectes sont nombreux :

* Hemiptera :

◦ le puceron noir des agrumes, *Toxoptera aurentii* ([Boyer de Fonscolombe](#)) (Hemiptera, Aphididae) : son action se traduit par un enroulement, une déformation des feuilles les plus jeunes, une inhibition du développement de la pousse et de l'avortement des fleurs durant la période de floraison avec comme effet secondaire la transmission des maladies virales.

◦ la cochenille d'agrumes, *Chrysomphalus ficus* Ashm., la cochenille farineuse, *Planococcus citri* [Risso](#) (Homoptères, Diaspididae) : les cochenilles forment des colonies à la base des fruits ou sur les faces inférieures des feuilles ou sur les jeunes tiges. Les parties envahies par les colonies de cochenilles se décolorent, deviennent chlorotique. La cochenille affaiblit l'arbre par succion de la sève lors de la prise de nourriture. L'arbre croît lentement, puis se dessèche partiellement ou totalement. L'infestation est importante dans les vergers mal entretenus.

Les Hemiptera sont responsables de la formation de la fumagine (cf § [p.349](#)).

* Lépidoptères : les chenilles de *Papilio demodecus* (Lépidoptères, Papilionidae) rongent les feuilles d'agrumes à partir du bord du limbe.

* Thysanoptères : le thrips, *Scirtothrips aurantii* Faure : les larves et les adultes causent les plus graves dégâts sur les jeunes pousses et les jeunes fruits, en perçant les cellules épidermiques. Des taches argentées sont observées sur les fruits infestés autour du pédoncule. Ces taches s'élargissent suivant la croissance du fruit et entraînent une diminution de la qualité des fruits.

* Diptères : les larves de la mineuse des feuilles d'agrumes, *Phyllocnistis citrella* [Stainton](#) (Agromizyidae) causent des dégâts importants sur les feuilles d'agrumes, notamment sur les jeunes feuilles, qui se recroquevillent.

La mouche des fruits, *Ceratitis malagassa* Munro (Tephritidae) est l'insecte le plus redoutable des arbres fruitiers à Madagascar, notamment sur les agrumes. Les fruits attaqués présentent généralement une zone de décoloration autour du point de piqûre. L'attaque se termine par un mûrissement précoce et la chute des fruits.

* **Principales maladies d'agrumes** (Meurillon, 1989 [a](#))

L'attaque des maladies occasionne des préjudices souvent irréparables pour les vergers d'agrumes, et certaines maladies arrivent à anéantir la plantation.

- La fumagine, *Capnodium Mont.* (Perisporiales – Perisporacées) : elle se développe à partir du miellat sécrété par les cochenilles, les pucerons et les psylles. Le champignon forme un feutrage noirâtre et enduit les rameaux, les fruits et les feuilles de tâches noirâtres. Il perturbe l'assimilation chlorophyllienne. La vigueur des arbres baisse constamment et la production diminue.

- La gommose parasitaire des agrumes, *Phytophthora sp.* (Peronosporales- Pythiacées) Plusieurs dizaines d'espèces sont recensées comme pathogènes des agrumes. On rencontre surtout *P. parasitica Dastur* et *P. citrophora*. Les symptômes s'expriment au niveau du collet pour les arbres non-greffés et au-dessus de la ligne de greffe pour les arbres greffés. La couleur de l'écorce devient foncée et on assiste à des craquelures longitudinales puis latérales sur le tronc, d'où les exsudations de gomme. L'écorce affectée et le cambium se dessèchent, ce qui découvre le bois sous-jacent et peut entraîner la mort de l'arbre. Quant aux feuilles, elles jaunissent en commençant par la nervure centrale, puis les rameaux et les branches se dessèchent.

- L'anthracnose ou *Colletotrichum gloeosporoides (Penz.) Sacc* peut attaquer les fruits qui montrent alors des taches brunes et aplaties. La pourriture pénètre profondément dans la chair sous forme d'un entonnoir. Les jeunes rameaux et les extrémités des branches se dessèchent et les feuilles tombent

- La tristeza est une virose qui affecte les agrumes, transmise par greffage et surtout par des insectes vecteurs, en particulier le puceron noir *Toxoptera aurentii*. Le début d'attaque de cette maladie s'observe sur le point de soudure greffon/porte-greffe par une nécrose du phloème dans l'écorce. Les tubes criblés et les cellules compagnes au-dessous du point de greffe dégénèrent, entraînant l'arrêt du mouvement de sève élaborée vers les racines.

4.1.4. Ravageurs de cultures maraîchères : cas des choux

Les choux peuvent être infectés par des champignons (Phoma, Mildiou, Hernie, Altérioroses). Les principaux insectes ravageurs de choux sont les chenilles défoliatrice : *Plutela xylostella L.* (Lepidoptères- Pyralidae), *S.podoptera littoralis* (Lépidoptère- Noctuidae), qui rongent les feuilles et diminuent la résistance de la plante aux attaques fongiques. On peut rencontrer aussi les espèces de pucerons suivantes : *Myzus persicae (Sulzer)*, *Brevicoryne brassicae (L.)*, *Lipaphis pseudobrassicae (Kaltenbach)*. L'importance des pucerons reste secondaire dans la production de choux. Lors de pullulation de pucerons,

les feuilles jaunissent, se recroquevillent et les plantes arrêtent de se développer (Reckhaus, 1997). La présence de pucerons diminue la valeur marchande du produit récolté. La pullulation de pucerons n'apparaît que pendant la période ~~sèche-chaude~~ et humide du mois d'octobre jusqu'au mois de février.

4.2. Importance des ennemis naturels des insectes ravageurs

Cette partie se propose de présenter succinctement les études faites sur les ennemis naturels des principaux déprédateurs des principales cultures à Madagascar. La plupart des études ne sont pas poursuivies du fait du coût qui n'est jamais à la portée des paysans malgaches.

- Le Centre Anti-acridien de Betioky Sud a réalisé en 1993- 1996 des inventaires de faune auxiliaire de *L. migratoria* dans la région de Sud-Ouest. Ils ont recensé des prédateurs très importants : le lézard (*Chalarodon madagascariensis* Peters), le serpent (*Madagascarophis colubrina* Schegel (Colubridae)), les oiseaux (milan noir (*Milvus migrans* Black Kite), faucon concolor (*Falco concolor* L.), héron garde-bœuf (*Bubulcus ibis* (Cattle Egret)), corbeau-pie (*Corvus albus* P.)), les insectes prédateurs en particulier *Microstylum magnum* Bromley (Diptères- Asilidae) et parasitoïdes de criquet : *Scelio spp.* Latreille (Hyménoptères-Scelionidae) et des diptères endoparasites des larves (Nemestrinidae, Sarcophagidae, Tachinidae et Muscidae) (Raholijaona, 1997). Actuellement, un projet de mise au point de l'utilisation des champignons ~~phytopathogènes-entomopathogènes~~ : *Beauveria* (Bals.) Vaill et *Metarhizium* (Metsch.) Sorokin est en cours.

- Sur la culture de riz : l'inventaire des ennemis naturels de la chenille foreuse de tiges, le « borer blanc » *Maliarpha separatella* Ragonot (Lepidoptera- Noctuidae) et l'étude de sa répartition géographique ont été menés en 1987 -1988. Le taux d'attaque des parasitoïdes est évalué à 15 %. On a trouvé les Hyménoptères suivants : *Telenomus bini* Haller (Scelionidae), *Phanerotoma saussurei* Kohl, *Bracon testaceorufatius* Ash. et *Rhaconotus niger* (Nees) (Braconidae), ~~*Vadoiena nembipennis* (Ichneumonidae)~~, *Goniozus indicus* Ashmead (Bethylidées). Le centre de recherche scientifique (FOFIFA) à Ambatondrazaka a fait un lâcher de 450 000 *G. indicus* au champ mais le coût de l'élevage est cher (1993). Les essais réalisés n'ont pas eu de suivi après ~~(1990)~~(Rafalimanana, 1995).

- Sur la culture de coton, la société HASYMA et le projet GTZ (projet allemand) se sont associés pour évaluer l'effet de traitements phytosanitaires sur les ennemis naturels des

principaux ravageurs du cotonnier et en même temps ils ont fait leur inventaire. Ils ont trouvé sur *H. armigera* des Trichogrammatidae, des Braconidae, des Ichneumonidae, des Eulophidae, des Pentatomidae et des araignées ; sur *A. gossypii* ils ont rencontré des Coccinelidae, des Syrphidae, des Neuroptera, des entomophthoracées (*Neozygites fresenii* [Click](#)). On n'a pas trouvé de parasitoïdes de pucerons sur le cotonnier (Kuklinski & Borgemeister, 2001). Les champignons (*Beauveria*, *Metarhizium*), la bactérie *Bacillus thuringiensis* [Dienocloro](#), les virus polyédriques et des protozoaires peuvent se développer sur les chenilles [des Noctuidae](#).

Des études écotoxicologiques ont été réalisées sur des prédateurs de pucerons (Kuklinski & Borgemeister, 2001) mais rien n'existe sur les parasitoïdes. La plupart des gens ne connaissent que l'action des prédateurs, alors que les parasitoïdes participent aussi, de façon plus discrète, à la limitation des populations de ravageurs.

Bien évidemment, nos études ne peuvent pas combler les vides qui existent après une période de 20 ans où la recherche sur l'entomofaune à Madagascar a été irrégulière, pour ne pas dire inexistante. Et de plus, les sites que nous avons étudiés ne représentent pas toute la diversité existante dans l'île. Il s'agit surtout d'une étude qualitative et très rarement quantitative.

5. Législation et utilisation des pesticides

La distribution et les utilisations des pesticides ont fait l'objet d'une réglementation et d'un contrôle légal depuis 1992. Tous les produits vendus sur le marché doivent préalablement obtenir une homologation.

Le service de Phytopharmacie et du Contrôle des Pesticides au sein de la Direction de la Protection des Végétaux (organisme assurant la protection des cultures dans le territoire malgache), à Antananarivo, assure actuellement la gestion des pesticides et le contrôle de leur conformité et de leur utilisation. Il est chargé de la réglementation des produits agropharmaceutiques et de l'application des textes législatifs et réglementaires y afférant. Il s'occupe de l'homologation des pesticides et en particulier de l'expérimentation sur l'efficacité biologique sur le terrain et des prescriptions d'utilisation. La décision concernant les risques d'écotoxicité se base généralement sur les analyses des dossiers écotoxicologiques fournis par la société (filiale d'une firme productrice de produits phytosanitaires) du fait du coût excessif de leur réalisation. Il est à noter cependant que des études écotoxicologiques d'utilisation des

acridicides ont été menées dans l'aire grégarigène du criquet jusqu'en 1996, mais qu'elles ne se sont pas poursuivies.

Le service de Phytopharmacie et du Contrôle des Pesticides est également responsable du suivi des stocks de produits périmés et de la gestion des produits destinés à des essais.

Lors de l'expérimentation, on rassemble des informations nécessaires à l'étude de rentabilité (spectre d'activité, rémanence, doses d'application, efficacité par rapport aux traitements standards, formulation et technique d'application). Les résultats doivent être valables pour une région relativement grande et pour une période suffisamment longue. Les essais sont organisés en différents endroits et pendant 3 ans.

Le laboratoire du Service de Phytopharmacie et de Contrôle des Pesticides est un des laboratoires dans l'Océan Indien bien équipé pour pouvoir vérifier la qualité des pesticides, en terme de normes de pureté, d'efficacité, de stabilité et d'innocuité.

Les analyses effectuées sur les échantillons prélevés ont montré des problèmes majeurs quant à la conformité et à la fiabilité des produits vendus aux agriculteurs. Ces problèmes tendent cependant à être résolus : le pourcentage de produits conformes aux normes passe de 35 % en 1992 à 53 % en 1995. Ces résultats concernent principalement les régions d'Antananarivo, Ambatondrazaka et Fianarantsoa. L'amélioration de la situation n'a pu être obtenue que grâce à un programme d'information et de sensibilisation et, surtout, de formation des revendeurs, assurée par le Service de Phytopharmacie et de Contrôle des Pesticides.

Les insecticides restent les produits phytosanitaires les plus utilisés à Madagascar (tableau 1). La grande variabilité des groupes de matières actives utilisées s'explique par le choix des organismes qui les utilisent et leurs coûts lors de l'appel d'offre.

Rubrique	1997
Insecticides :	
- Hydrocarbures chlorés	-
- Organophosphorés	104 885,6
- Carbamates	394,6
- Pyrethrinoïdes	152,5
- Dérégulateur de croissance	628,4
- Phényl pyrazoles	9 094
- Divers	302,5
	115 457,6
Herbicides :	

- Phytohormones de synthèse	14 124
- Triazines	6 656
- Amides	
- Dérivés de l'urée	350
- Bipyridiles	
- Divers	659,7
	21 789,7
Fongicides, bactéricides, traitement des semences :	
- Produits inorganiques	
- Dithiocarbamates	1 618,8
	1 618,8

1997 : Données incomplètes pour l'utilisation sur culture cotonnière (310 tonnes d'insecticides ou 78 tonnes de matière active).

Tableau 1 : Quantité de matières actives utilisée à Madagascar en 1997 (kg) (DPV, 2001)

6. Pratiques paysannes en matière de protection des cultures

L'analyse des problèmes phytosanitaires liés aux pratiques paysannes en matière de protection des cultures repose sur la synthèse des études faites par deux étudiants que nous avons encadrés lors de la préparation de leur diplôme d'ingénieur ingénieur à l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Antananarivo en 1998. C'est aussi le fruit d'une collaboration avec deux organismes : dans le cadre de l'action menée par la société HASYMA afin d'améliorer la technique de lutte intégrée pour protéger la culture de coton, et dans le cadre de l'action menée par le Projet Sud-Ouest afin d'améliorer la production rizicole. Nous avons mené l'analyse par enquêtes auprès des agriculteurs.

La quasi-totalité des exploitations est tenue par des agriculteurs ayant souvent un niveau de connaissance faible, et la mise en œuvre d'une lutte intégrée ne semble pas tout à fait évidente.

Les cultures choisies peuvent illustrer des situations qui ne sont pas comparables mais cela nous a permis de mettre en évidence l'importance de l'encadrement en matière de protection intégrée. Nous avons pris différents cas : la riziculture, où les agriculteurs ne reçoivent aucun encadrement pour protéger la culture, et le coton, où les agriculteurs sont conseillés en matière de protection intégrée de leur culture. Cette analyse nous montre une importante différence de niveau de connaissance en matière de protection phytosanitaire entre

ceux qui ont reçu un encadrement et ceux qui n'en ont jamais eu. Le niveau faible de connaissance des agriculteurs en matière de protection phytosanitaire pose un problème d'inadéquation des pesticides et augmente le risque de toxicité envers la faune utile.

* Pour les agriculteurs ne recevant pas d'encadrement, on constate une forte corrélation entre pullulation des ravageurs et techniques de production traditionnelle conduisant ainsi à un niveau de rendement faible (moins de 2 T/ha). Les cultivateurs n'arrivent pas à distinguer les attaques dues à des ravageurs ou à des maladies. Pourtant, la majorité d'entre eux accorde une grande importance aux problèmes bien que la plupart n'en souffre que partiellement. Ils n'utilisent aucun moyen de lutte pour combattre les ravageurs et maladies du riz ~~car ils ne sont pas en mesure de le faire~~. Pour ceux qui connaissent un peu les méthodes de protection de la riziculture, ils se contentent de ~~la méthode de lutte biologique~~ l'utilisation des plantes insecticides (~~utilisation de~~ neem, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliacées) ~~une plante insecticide~~), ~~et de cendre~~) et de méthodes culturales pour limiter l'attaque des ravageurs, faute de moyens financiers. Pour les agriculteurs, la neem est moyennement efficace car une fois son action de ce produit dissipée, les insectes réapparaissent. Néanmoins, la lutte agronomique, le séchage et la submersion des rizières, les dates de semis, semblent efficaces sur la prévention vis-à-vis des insectes. Quant aux traitements chimiques, ils sont jugés très efficaces par ceux qui les appliquent, or certains agriculteurs traitent les maladies avec des insecticides (Rasamiarivony, 1999).

* La culture cotonnière, bien que très exigeante sur le plan technique et financier, s'est généralisée actuellement dans le Sud-ouest de Madagascar. Les apports techniques et le matériel fourni par la société HASYMA, ainsi que l'assurance de pouvoir vendre la production à un prix rémunérateur, encouragent les petits planteurs de coton. La mise en place d'une lutte intégrée en milieu paysan s'appuie énormément sur les actions de sensibilisation menées par la société HASYMA. La lutte intégrée demande aussi une capacité technique suffisante de la part des agriculteurs.

Parmi les méthodes de lutte, les agriculteurs ont un niveau de connaissance assez élevé en ce qui concerne la lutte agronomique (respect de la densité, récolte précoce, nettoyage de culture, destruction de la culture après récolte) (Ramananarivo, 1998).

L'implication de la lutte biologique dans la protection de la culture cotonnière est encore minime, car les insectes utiles agissent d'une manière discrète et peu visible par

rapport aux dégâts causés par les ravageurs. De nombreux agriculteurs ne connaissent pas la méthode qu'ils peuvent adopter pour favoriser l'action de ces auxiliaires (retarder le premier traitement, utiliser des insecticides spécifiques). De nombreux agriculteurs ont quelques connaissances sur les auxiliaires (quelques espèces d'oiseaux, guêpes sociales (Hyménoptères), Hémiptères, Coccinelles (Coléoptères) et fourmis (Hyménoptères)) mais personne ne connaît l'existence des parasitoïdes (Ramananarivo, 1998).

Les traitements chimiques, qui constituent jusqu'à maintenant la base de la lutte contre les ravageurs, sont loin d'être maîtrisés par la majorité des planteurs. Des problèmes de non-adaptation des produits peuvent se produire dans de nombreuses exploitations, du fait que la majorité des agriculteurs ont souvent du mal à faire la distinction entre certains ravageurs. Les produits sont fréquemment appliqués à des moments inopportuns, car certains agriculteurs n'appliquent pas correctement la technique de traitement sur seuil (Ramananarivo, 1998). La quantité d'insecticide épanchée correspond à 10 Kg/ha de produits commerciaux.

Malgré les aspects positifs et les efforts considérables déployés par les organismes chargés du développement de cette culture, les résultats obtenus jusqu'à présent semblent encore insatisfaisants. Les rendements à l'hectare restent encore faibles (rendement moyen au niveau paysan de 1,15 T/ha contre 2,6 T/ha pour un traitement standard dans le Sud-Ouest).

7. Conclusion

L'agriculture a une importance considérable dans le développement de l'économie malgache. Cependant, l'attaque d'insectes, les principaux ennemis des cultures, peut diminuer, et même anéantir le rendement en l'absence de protection. La lutte chimique n'est pas le seul moyen qu'utilisent actuellement les agriculteurs pour combattre les ennemis de leur culture. La plupart des agriculteurs connaissent les incidences de nombreuses mesures culturales et prophylactiques dans la régulation du niveau de population des ravageurs. Quant à la lutte biologique, sa place reste faible à présent même si un pourcentage non négligeable d'agriculteurs ont déjà une certaine connaissance sur l'existence de la faune auxiliaire, en particulier les prédateurs. Personne ne connaît l'existence des parasitoïdes. Nombre d'entre eux ne connaissent pas les méthodes pour favoriser l'action de ces auxiliaires. Puisque la lutte biologique s'avère difficile à mettre en place dans la plupart des cas d'attaques de ravageurs et à cause des techniques de lutte délicates, l'utilisation d'insecticides reste indispensable afin d'assurer une production abondante régulière et de bonne qualité.

Une centaine de tonnes de matières actives est déversée chaque année, dont environ 89% d'insecticides en 1997. Or, les traitements chimiques, qui constituent jusqu'à maintenant la base de la lutte contre les ravageurs, sont loin d'être maîtrisés par la majorité des agriculteurs. Après la lutte antiacridienne, la culture cotonnière est la plus grande consommatrice de produits phytosanitaires dans le pays. Nous pensons que la lutte intégrée devrait progresser en améliorant les techniques de traitement chimique pour que celle-ci soit effectuée d'une façon raisonnable et donc plus économique et plus respectueuse de l'environnement (choix de matières actives plus sélective, rémanence, respect du seuil de traitement). Or les insecticides conditionnent la qualité de l'écosystème naturel par le biais de leurs résidus et perturbent ainsi l'action des auxiliaires (Elzen, 1989).

Cette étude nous a permis de constater qu'à Madagascar, les insectes utiles courent un risque important d'exposition aux pesticides et en particulier aux insecticides. La quantité déversée lors de l'invasion du criquet migrateur et la non maîtrise de la lutte chimique par les agriculteurs favorisent un déséquilibre environnemental. Les effets d'intoxication existent et peuvent aboutir à l'absence d'action des parasitoïdes de pucerons dans la culture de coton, et à l'inquiétude des apiculteurs à cause de la disparition progressive de leurs ruches.

L'évaluation des effets des insecticides sur les abeilles dans une région productrice d'agrumes, et sur les parasitoïdes dans des parcelles de choux, nous a permis d'apporter des informations plus précises sur les risques occasionnés à ces auxiliaires pour l'utilisation d'insecticides.

Chapitre 2 : Analyse de l'impact des traitements phytosanitaires en agrumiculture sur l'apiculture

1. Introduction

L'amélioration du rendement obtenu par arbre fruitier repose sur l'activité pollinisatrice des insectes et la protection contre l'attaque des ennemis de la culture. Pour protéger les vergers, les agriculteurs disposent de différentes méthodes de lutte qui varient selon les moyens à leur disposition. Les produits phytosanitaires restent les plus employés pour protéger les vergers où le développement des ravageurs est rapide. L'abeille domestique court souvent le risque d'être victime de poisons qui ne lui sont pas destinés (Louveaux, 1984).

L'identification de l'effet des traitements phytosanitaires des arbres fruitiers sur l'apiculture passe d'abord par la connaissance des réalités apicoles et des pratiques agrumicoles. L'objectif de cette étude est de savoir si le facteur de blocage du secteur apicole dépend de l'apiculture elle-même ou d'autres facteurs extrinsèques tel que la lutte chimique.

Pour analyser l'impact de traitements phytosanitaires en agrumiculture sur l'apiculture, nous avons mené une enquête sur l'interaction de l'agrumiculture et de l'apiculture dans la région d'Ambositra (sur le Haut-plateau). Nous avons choisi la région d'Ambositra pour les raisons suivantes : d'une part c'est la première zone productrice en miel assurant les besoins de la capitale malgache. On évalue la production en miel dans la région à 51 375 kg en 1998. D'autre part, les agriculteurs ne connaissent pas la conduite des arbres fruitiers et la connaissance des ravageurs et des maladies est peu développée malgré les dégâts causés. Ainsi, ils traitent leurs vergers sans un minimum de connaissance et beaucoup ne disposent pas de moyens efficaces. En général, l'exiguïté des surfaces de vergers d'agrumes accentuée par l'enclavement des zones productrices, où les voies de communication font défaut, freinent la culture des agrumes.

Selon les témoignages recueillis, les traitements phytosanitaires ont débuté entre les années 1980 et 1990. Les produits sont apportés par les intermédiaires venant des villes (Ambositra, Antsirabe et Antananarivo) pour acheter sur pied les oranges pendant la période de floraison. Pour maximiser leur profit, ils pensent que l'épandage des produits chimiques est la meilleure solution pour obtenir plus de fruits de bonne qualité et pour pouvoir étaler la récolte. Les agriculteurs, convaincus de l'efficacité du traitement effectué par des intermédiaires, persèverent dans la pulvérisation de leurs champs. Le traitement devient une pratique courante

notamment pendant la floraison. Les effets des traitements phytosanitaires passent souvent inaperçus aux yeux des apiculteurs non avertis et pourraient encore freiner l'apiculture.

Avant d'entrer dans le vif du sujet, il est nécessaire de faire un rappel sur la conduite de l'élevage et la pratique apicole et la conduite culturale pour les agrumes.

2. Conduite d'élevage et pratique apicole

2.1. Catégories d'apiculteurs

L'apiculture est considérée comme une activité secondaire. Rares sont les personnes qui vivent uniquement de l'exploitation des abeilles. Par leurs techniques et le matériel apicole utilisés, on classe les apiculteurs malgaches en quatre grandes catégories :

- les apiculteurs qui pratiquent la cueillette du miel dans la forêt, qui ne font que ramasser les morceaux de rayons (cire+ miel) et qui assurent l'extraction par pression, ce qui donne un miel de mauvaise qualité,

- les apiculteurs qui utilisent des ruches traditionnelles constituent 92 % des apiculteurs,

- les apiculteurs qui utilisent des ruches semi-modernes ou à barrettes diffèrent du groupe précédent par le nombre des ruches exploitées et par l'investissement fait. Ils ne représentent que 5% des apiculteurs,

- les apiculteurs qui utilisent des ruches à cadre sont en général des gens d'un certain niveau intellectuel et/ ou financier et appartiennent à des associations diverses

A côté de ces catégories, il y a aussi des chasseurs d'essaims qui possèdent également leur propre technique. Ce sont les apiculteurs qui font la chasse aux abeilles dans la forêt comme principale occupation, après l'agriculture et l'élevage. Ils habitent le plus souvent en bordure des forêts, notamment Ambatolaona et Mandraka.

2.2. Matériel apicole

Les ruches sont rudimentaires, de formes et de dimensions variables. Leur conception dépend de la disponibilité en matières premières, sans aucune préoccupation pour les besoins réels des colonies d'abeilles. En effet, la fabrication de ruche est rendue difficile par le manque de matériaux (pointes, bois usinés, outils...) et leur coût excessif. C'est ainsi que des ruches de tous genres érigés au gré de l'imagination de leur possesseur réapparaissent. On peut classer les ruches existantes à Madagascar en trois groupes : ruches traditionnelles, ruches améliorées et ruches modernes.

On rencontre les types de ruches traditionnelles suivants : les ruches en caisses, les ruches maisonnettes, les ruches creusées dans un talus, les troncs d'arbres creusés (placée à la fourche d'un arbre qui peut être un aloès ou Ravenala) et les poteries, la jarre ou la marmite en terre couchée sur le sol le plus souvent, accolées deux à deux (Figure 3).

Les ruches améliorées constituées par les ruches à barrettes dérivent le plus souvent de la ruche caisse ordinaire, si ce n'est que deux des faces intérieures sont munies de deux barres pour supporter les barrettes. Les barrettes empêchent les abeilles d'édifier les rayons selon leur propre gré, ce qui facilite la visite et la récolte. Sa construction ne présente pas de grande difficulté et un apiculteur habitué à la ruche caisse peut très bien la réaliser. Sa conception permet déjà l'utilisation d'une hausse, ce qui améliore la production et le rendement. Mais les barrettes ne se prêtent pas à l'extracteur.

Parmi, les ruches modernes ou ruches à cadres mobiles, les « langstroth », jugées plus pratiques, sont préférée au type "Dadant" (Figure 4). Elles se composent d'un toit, d'un couvre-cadre, d'une hausse, d'un corps et d'un plancher (Figure 5). Les dimensions standards sont les suivantes : dimension du corps : 500 x 400 x 200 mm (Razanacolona, 2000). La ruche à cadres mobiles permet d'effectuer une visite de colonie, facilite des interventions diverses pour la bonne conduite de l'élevage (nettoyage, essaimage artificiel, transvasement, élevage de reine). Le rendement en miel est amélioré en laissant intact les cadres de couvain.

Pour pouvoir manipuler aisément le cheptel apicole, un apiculteur moderne doit disposer des accessoires suivants : enfumoir, vêtements de protection, lève-cadre, brosse à abeille, et récipients appropriés à la récolte.

Les apiculteurs n'ont pas tous le matériel de visite. Ils n'emploient le plus souvent qu'un morceau de tissu ou des branchages brûlés comme matériau pour enfumoir, le couteau de cuisine pour inciser les rayons, une cuvette ou même une marmite pour les morceaux de rayons récoltés. Ils ne portent ni voile ni gants. Etant donné le coût élevé des accessoires apicoles, les gens se résignent à l'emploi d'outils traditionnels.

<p>Ruche maisonnette d'Ambositra</p>	<p>Ruche pirogue de Marovoay</p>
<p>1 - bâtisse en mortier de terre ; 2 - battant rabattable ; 3 - cavité rectangulaire ; 4 - zone d'extension ; 5 - caisse-nid</p>	<p>(1 - Trous de vol)</p>
<p>Ruche à barrettes d'Ambositra</p>	<p>Poteries accolées deux à deux des régions côtières</p>
<p>1 couvercle à charnière recouvert de tôle ondulée 2 Espace libre entre le corps et le couvercle 3 Trous d'envol</p>	<p>1 - trou de vol 2 - calebasse 3 - poteries reliées par tronc d'arbre</p>

Figure 3 : Quelques types de ruches malgaches (Fert, 1999)

A gauche : ruche « Dadant » (dix cadres dans le corps et neuf cadres dans la hausse)

A droite : ruche « Langstroth » (dix cadres dans le corps et dans la hausse)

Figure 4 : Ruches modernes

Du haut vers le bas : toit, couvre cadre, corps et plancher

Figure 5 : Différentes parties d'une ruche

2.3. Pratique apicole

2.3.1. Origine des essaims

Les apiculteurs ne peuvent pas faire face aux difficultés d'approvisionnement en colonies d'abeilles du fait de l'absence de centres de multiplication. Ils se contentent de la chasse ou de la capture des colonies d'abeilles de la forêt la plus proche (Rakotomalala, 1988 ; Fert, 1999). ~~De plus, on ne peut pas améliorer le cheptel par les techniques de multiplication des colonies comme l'essaimage artificiel, pour renforcer des colonies faibles.~~ L'élevage de reines ne se pratique pas. Il est à noter cependant que les ouvrières font l'élevage de reines même durant la période intermédiaire (Février-mars).

Un chasseur expérimenté peut récolter 10 à 20 essaims dans la semaine si les conditions lui sont favorables. Un essaim peut être récupéré d'octobre à décembre, période pendant laquelle on voit un grand nombre d'essaims ~~migrant~~ faisant une migration vers la forêt, attirés par la floraison des essences mellifères de la forêt.

La méthode utilisée dans la chasse d'essaim reste traditionnelle, ce qui fait perdre du temps et rend la capture aléatoire. Le métier d'un chasseur d'essaims est dur, nécessitant surtout du courage et de la patience. Cependant, les chasseurs ne se préoccupent pas tellement des conséquences de leur intervention sur la colonie qu'ils viennent de récolter.

2.3.2. Modes de peuplement

Les modes de peuplement reposent sur le peuplement par enruchement ou par transvasement, et sur le peuplement par essaimage artificiel.

Le peuplement par enruchement consiste à introduire l'essaim récupéré dans la forêt dans une nouvelle ruche. La récolte d'essaims sauvages permet d'obtenir une colonie homogène (colonie complète) issue d'une même population, ce qui facilite la domestication. On reproche à cette méthode d'être trop hasardeuse car il n'y a pas assez de réserves pour qu'une colonie puisse subsister.

Généralement, on effectue le transvasement d'une ruche fixe traditionnelle dans une ruche à cadres.

Le peuplement par essaimage artificiel constitue la méthode la plus rationnelle et la plus avantageuse que nous ayons rencontrée. L'objectif est d'obtenir deux ou plusieurs colonies nouvelles à partir d'une ruche peuplée, en intervenant volontairement. La ruche initiale devient orpheline, et ses rayons doivent contenir des œufs de moins de 3 jours pour parvenir à l'obtention des reines, la nouvelle ruche étant dotée de la reine qui avait initié l'essaim.

2.3.3. Conduite du rucher

Les ruches sont placées généralement près de l'habitation, dans la cour, par peur des vols et destructions. Cependant, en apiculture rationnelle, l'emplacement des ruches est choisi en fonction de la proximité d'une source d'essences mellifères pour faciliter le butinage des abeilles, à l'abri des vents dominants, à l'ombre, loin des perturbations fréquentes.

Une fois la ruche peuplée, la plupart des apiculteurs ne font qu'attendre sa production. Il y en a pourtant qui enlèvent des vieux rayons au début de la grande floraison et effectuent le rebouchage des fentes sur la ruche. Or les apiculteurs pratiquant les méthodes modernes suivent scrupuleusement le calendrier de travail apicole : contrôle de l'état sanitaire de la colonie et importance de la population adulte, état de la provision, présence éventuelle des ennemis. Ils nettoient le rucher et réparent les toits des ruches. Ils mettent les hausses dès que les 8 cadres du corps sont garnis de rayons. La récolte n'a lieu que lorsque tous les cadres de la hausse sont pleins.

2.3.4. Ennemis

Il est vrai que l'élevage traditionnel, ~~aussi passif qu'il soit~~, permet toujours aux apiculteurs d'obtenir du miel et de la cire. ~~Cependant, l'obtention d'une colonie saine privée d'ennemis divers n'est possible que par des visites fréquentes et de nombreux soins.~~ L'absence de maladies contagieuses est un atout considérable pour l'apiculture malgache.

Cependant, la présence de prédateurs favorise l'abandon de la ruche. Les uns sont des parasites qui cherchent surtout des provisions, les autres sont des prédateurs des ouvrières. A part les araignées, les fourmis et les rats, la ruche est ravagée par la grande fausse teigne : *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lépidoptera), la petite fausse teigne : *Achroea grisella* Fabr. (Lépidoptera) et le sphinx à tête de mort, *Acherontia atropos* (Linnaeus). L'obtention d'une colonie saine n'est possible que par des visites fréquentes et de nombreux soins.

3. Conduite culturale des agrumes

3.1. Installation du verger

Les agrumes préfèrent les alluvions légères, profondes et saines. On peut aussi planter sur des latérites ameublies, et sur les colluvions de bas de pente ~~(Montagnac, 1960)~~ (Praloran et al., 1964). Les agrumes ont par conséquent besoin d'un sol bien équilibré pour leur développement et pour une production de qualité. Ce sont des sols bien drainés, éliminant les eaux en excès pendant les périodes pluvieuses, mais ayant une rétention suffisante de l'eau et des éléments fertilisants assurant une nutrition correcte : les risques de lessivage doivent être limités. Certains vergers sont établis suite à des déboisements ~~(Gautier, 1993)~~.

Avant la plantation, les jeunes plants subissent l'habillage et le pralinage. On les place dans un trou de 0,80 à 1 m de côté, rebouché et bien fertile et qui est préparé au moins deux mois avant la plantation.

A Madagascar, sur les Hauts Plateaux, les froids pendant le mois de juin jusqu'au mois d'août sont largement suffisants pour que les fruits prennent une coloration « rouge-orange ». Les régions de basse altitude ne subissent pas de période froide suffisante pour que les fruits atteignent la même couleur qu'en altitude ; elles varient du « vert-jaune » au « jaune-orange » (Bove & Cassin, 1968). La durée de la période de sécheresse hivernale a également une influence non négligeable sur la coloration : plus elle est longue, meilleure sera la coloration obtenue (Praloran et al., 1964). L'agrumiculture a besoin d'une pluviométrie annuelle de 1 500 mm répartie sur 9 à 10 mois (Grisoni, 1993).

3.2. Entretien divers

Durant sa vie, l'arbre est soumis à plusieurs tailles : tailles de formation et tailles de fructification (~~Loussert, 1993~~ Praloran, 1971). Les tailles d'entretien permettent d'éclaircir des rameaux et des jeunes brindilles et favorisent la pénétration du rayonnement solaire qui conditionne la mise à fruit à l'intérieur de la frondaison.

La taille de formation vise à supprimer les jeunes pousses qui se développent entre le collet et les premières grosses branches. A cause de leur frondaison persistante, la taille des agrumes est recommandée vers la 3^{ème} année après la plantation. A partir de la 4^{ème} année, et les années suivantes, la taille de formation se confond avec la première taille de fructification ([Praloran, 1971](#)~~[Loussert, 1993](#)~~). La taille de fructification permet d'améliorer la production de fruits.

Les agrumes ont besoin d'une fumure équilibrée pour une productivité importante et régulière. Les mauvaises herbes posent des problèmes pour l'entretien de la culture fruitière. Elles peuvent servir de plantes hôtes, abritant les parasites et ravageurs divers. Le paillage est à proscrire en terres lourdes ou battantes car il accentue la tendance à la mauvaise aération.

4. Présentation de la région d'étude

Malgré l'existence de nombreuses zones propices à l'apiculture et à l'agrumiculture à Madagascar, nous avons choisi comme régions d'études : Ambositra, Fandriana, Ambotofinandrahana, et Manandriana, dans la province de Fianarantsoa. Elle a une superficie de 313 km². La densité de la population est supérieure à 80 habitants au km².

La zone d'étude a un relief généralement accidenté où les pentes dépassent fréquemment les 45 %. La région jouit d'un climat intertropical humide d'altitude influencé par la proximité de la forêt orientale. Ce climat est en outre caractérisé par une saison des pluies bien marquée qui s'étend de novembre à avril, au cours de laquelle on enregistre 80 % des précipitations annuelles qui se chiffrent à 1 600 mm avec une température moyenne de 17,8 °C. La saison sèche s'étend de mai à octobre. Cela est favorable aux cultures pérennes même si l'arrosage régulier durant l'hiver est obligatoire. L'humidité relative de l'air même en saison sèche favorise une meilleure teneur en jus de fruit.

La région d'étude offre un paysage marqué par l'arboriculture. Ce sont de multiples vergers où se combinent inégalement caféiers, mûriers, arbres fruitiers et surtout des orangers. Les pêchers et les pruniers sont aussi présents, même si la région ne peut pas être comparée à celle d'Antsirabe (Antananarivo). La région d'Ambositra dénombrait en 1994 plus de 140 000 pieds d'arbres fruitiers, parmi lesquels 70 000 pieds d'agrumes, dont 37,44 % de jeunes plants et 62,56 % d'arbres productifs. En outre, on note une forte demande en produits phytosanitaires pour tous les arbres fruitiers (environ 190 l de produit commercial de deltaméthrine, 150 l de produit commercial de lambda-cyhalothrine et 230 l de produit commercial de méthidathion), ainsi qu'une forte demande en nouveaux pieds d'agrumes (14 600 pieds).

Aujourd'hui, tous les foyers pratiquent la culture d'agrumes. C'est la principale culture de rente, alimentant les villes d'Ambositra, d'Antsirabe et d'Antananarivo devantant le tabac et l'arachide, car plus rémunératrice.

5. Méthodologie de travail

5.1. Principe

Nous avons procédé à une enquête auprès de 24 personnes pour faire un état des lieux sur l'importance de l'apiculture et connaître les pratiques d'agrumiculture en particulier sa protection contre les ennemis. Nous avons choisi au hasard 6 agriculteurs par commune pratiquant en même temps l'agrumiculture et l'apiculture. Puisque la principale activité reste l'agriculture, nous les avons ~~les~~ désigné en tant qu'agriculteurs. Le choix est réalisé à partir de la liste de recensement de chaque commune. Nous essayons donc d'identifier les techniques culturales pour les agrumes, depuis l'installation du verger jusqu'aux différents soins, en particulier les traitements phytosanitaires et les luttes opérées, et les pratiques apicoles. Enfin, nous voulons faire ressortir des relations entre la lutte chimique pour protéger les agrumes et l'apiculture.

5.2. Paramètres quantifiés

Nous avons recensé le type de ruches, les modes de peuplements y compris le piégeage des colonies et le clippage de reine (couper les ailes de la reine pour éviter un nouvel essaimage), l'apport de sirop pour nourrir les abeilles, les fréquences de récoltes, ainsi que l'appartenance des agriculteurs aux groupements apicoles.

Nous avons étudié le mode d'approvisionnement des jeunes plants jusqu'à la récolte, et même le système de vente. Nous avons essayé de reconnaître les itinéraires techniques pratiqués tels que le type de labour, la façon de multiplier les jeunes plants, la plantation dans un trou ou non, l'habillage des racines, la taille, l'irrigation, le paillage, les pratiques de culture intercalaire et de fumure d'entretien. En plus, nous avons évalué le degré de connaissance sur les problèmes phytosanitaires à partir de la capacité à distinguer les ravageurs et les maladies, les dégâts provoqués et les moyens de lutte appliqués.

Dans le cas d'une lutte chimique, les produits utilisés, la fréquence du traitement, les critères de déclenchement de la lutte, le type de traitement et les qualités attendues d'un produit, sont demandés aux agriculteurs. Pour ceux qui optent pour la lutte non chimique, nous avons voulu connaître les raisons de leur choix. Comme la situation foncière dans la zone d'étude est

saturée, conduisant au morcellement des parcelles, en l'occurrence les vergers, nous leur avons aussi demandé si leurs environs immédiats étaient traités ou non.

Ainsi, on évalue la connaissance des agriculteurs sur l'importance de l'apiculture sur l'arboriculture, la présence des ruches près de vergers traités, leur point de vue sur les traitements phytosanitaires et leurs observations au niveau de chaque rucher ou verger après les traitements, même à proximité de leur village.

5.3. Mode d'exploitation des données

Nous avons traité les données d'enquête par l'Analyse Factorielle des Correspondances (AFC), qui a comme principal objectif d'obtenir la typologie de la population concernée. En effet, elle fait apparaître les paramètres les plus significatifs (donnant le plus d'inertie à l'axe), indiquant le comportement majoritaire de la population. Ces paramètres peuvent être considérés comme "facteurs de distinction" entre groupes d'agriculteurs. L'AFC fait ainsi apparaître les ressemblances ou les dissemblances des individus entre deux ou plusieurs paramètres selon les variables observées. Elle présente les individus et les variables caractéristiques sur un plan bidimensionnel.

6. Résultats d'enquête

6.1. Fréquences des différentes pratiques en apiculture et agrumiculture

6.1.1. Importance de l'apiculture

La plupart des apiculteurs ont entre 1 et 15 ruches et utilisent des ruches améliorées et du matériel incomplet (Figures 6, 7). Ils essaient néanmoins d'adapter le matériel à leurs besoins par le bricolage.

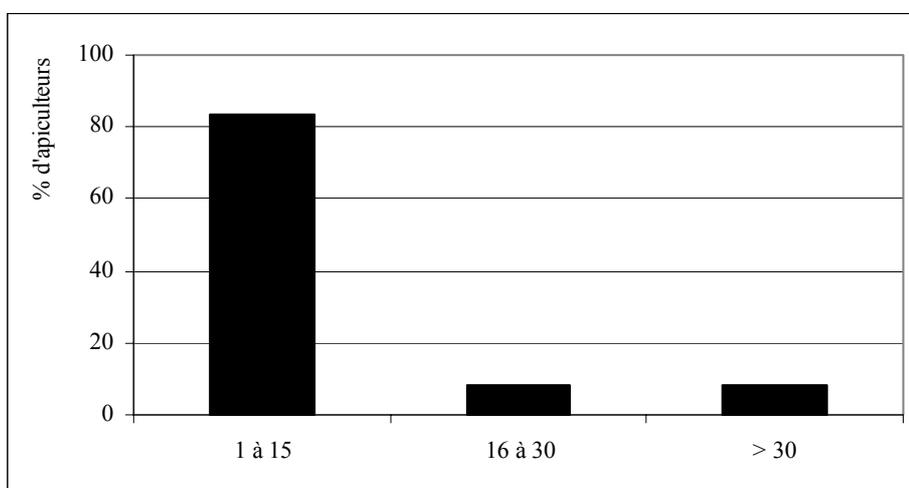


Figure 6 : Nombre de ruches utilisées par les agriculteurs (n= 24 agriculteurs)

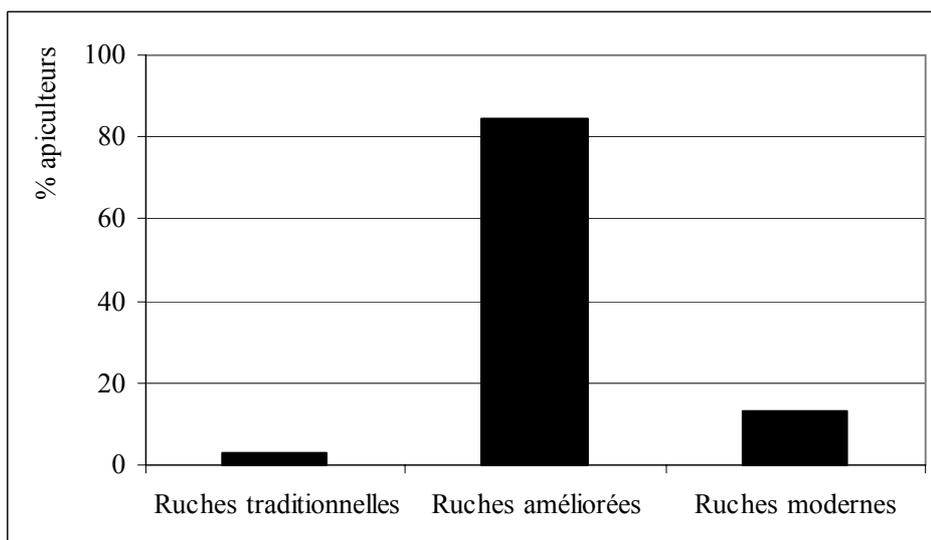


Figure 7 : Types de ruches utilisées (n= 301 ruches)

Quelques agriculteurs effectuent le piégeage d'essaims. Ils pratiquent le peuplement par enruchement associé quelque fois avec l'essaimage artificiel. Les agriculteurs qui possèdent un petit nombre de ruches pratiquent le clippage de reine. Les autres mettent directement leurs ruches sur les troncs d'arbres sans capturer la reine, ou bricolent des cages à reine (Figure 8).

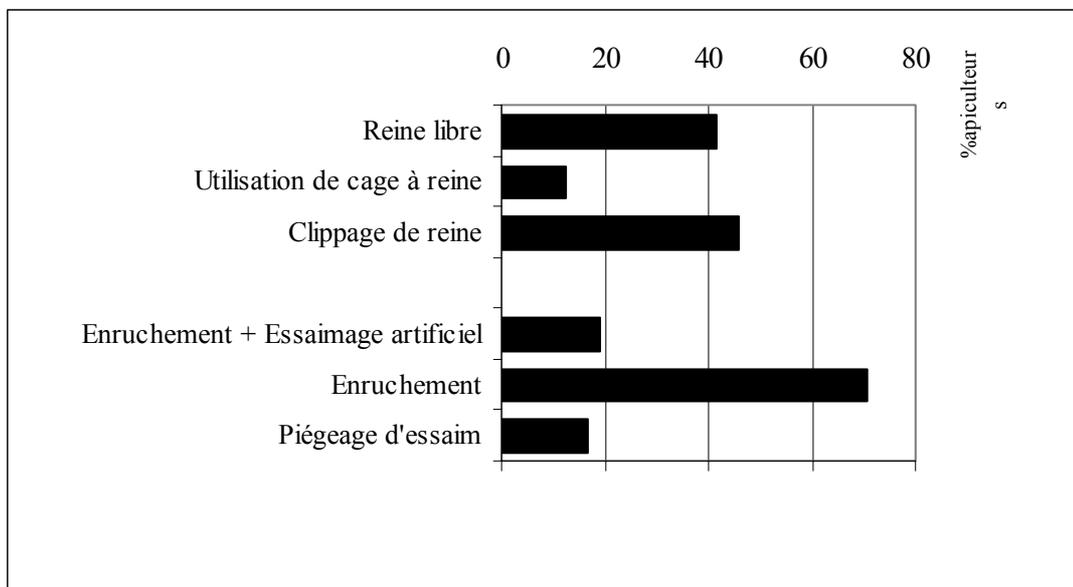


Figure 8 : Mode de peuplement (n= 24 agriculteurs)

En ce qui concerne les soins apportés au rucher, la plupart des agriculteurs ne nourrissent pas leurs colonies (Figure 9), soit parce qu'ils ne le veulent pas, soit parce qu'ils ne savent pas comment faire. Pour ceux qui nourrissent les colonies d'abeilles, ils donnent du sirop de saccharose. Ils nourrissent leurs colonies jugées faibles avec du sirop de sucre le matin ou le soir après l'arrêt des travaux des butineuses.

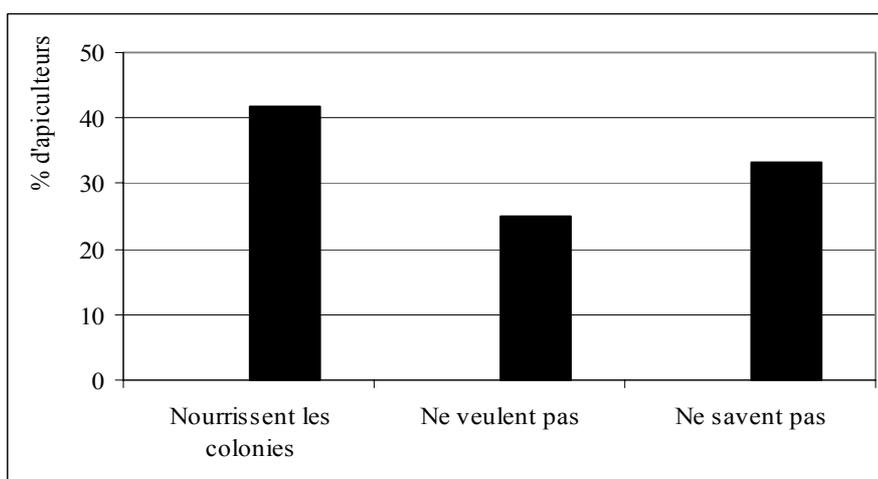


Figure 9 : Importance des agriculteurs qui nourrissent leurs colonies (n= 24 d'agriculteurs)

Plus de 60 % des agriculteurs exploitent excessivement leur rucher, récoltant le miel tous les mois voir plus, du mois de mai jusqu'au mois d'octobre, et probablement sans considération des réserves pour les colonies (Figure 10). ~~Comme~~ La production en miel reste faible, environ 8,5 kg par ruche. La plupart des agriculteurs commencent à vendre les produits de la ruche, la vente est encore limitée (Figure 11).

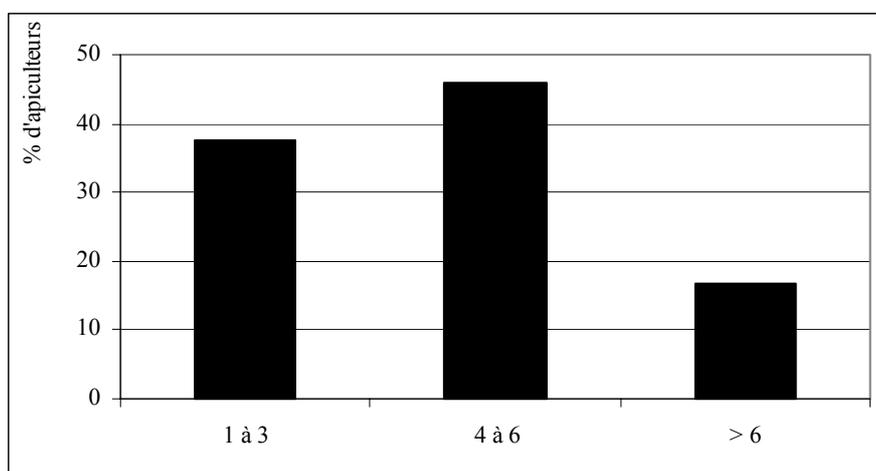


Figure 10 : Fréquence annuelle des récoltes de miel (n= 24 agriculteurs)

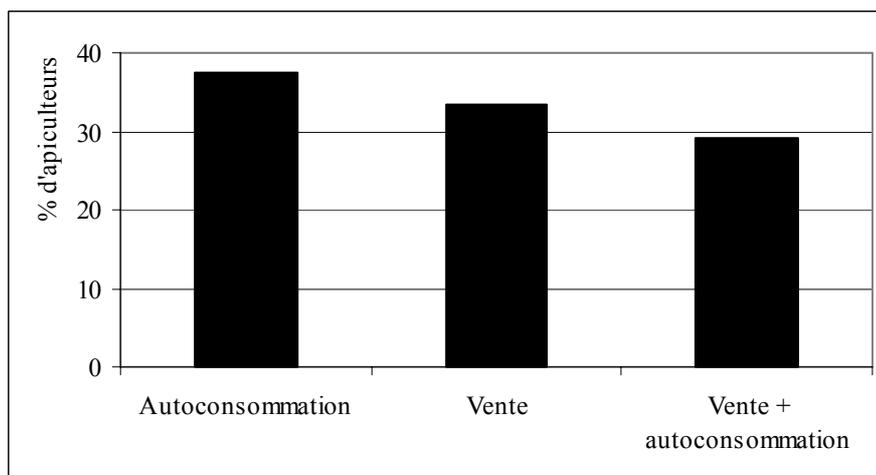


Figure 11 : Destination du miel (n= 24 agriculteurs)

6.1.2. Importance de l'agrumiculture

Le marché hebdomadaire (Zoma à Andina) tient une place importante pour l'approvisionnement en jeunes plants (Figure 12). Contrairement à la constatation générale de l'importance de l'agrumiculture dans la région d'étude, peu d'agriculteurs exploitent réellement l'agrumiculture. La majorité des personnes interrogées (80 %) installent leurs vergers suivant le type de relief de leur exploitation : selon les courbes de niveaux pour les terrains en pente et selon une disposition rectangulaire ou en carré pour un terrain vaste et plat (Figure 13).

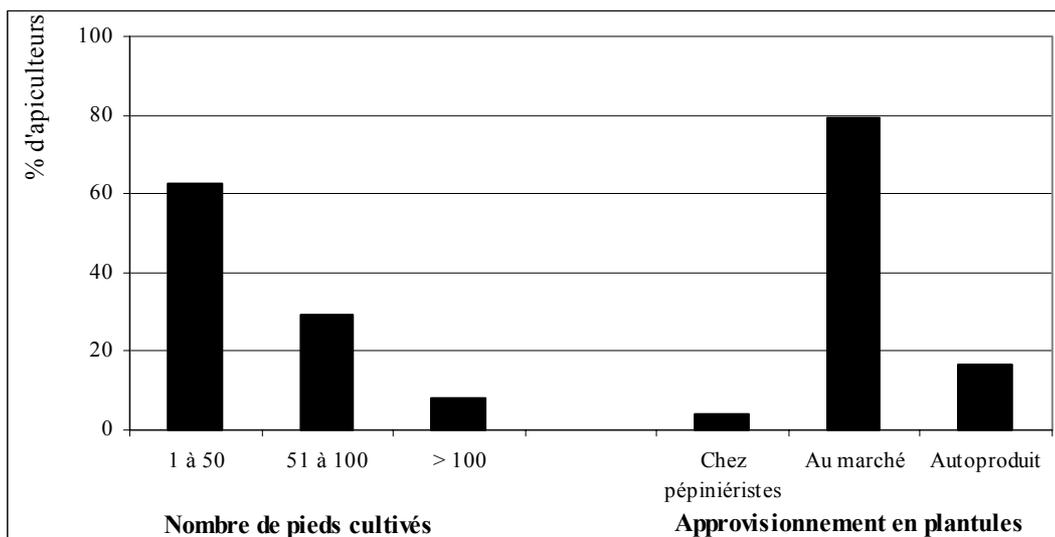


Figure 12 : Importance de la culture d'agrumes et origine des jeunes plants (n= 24)

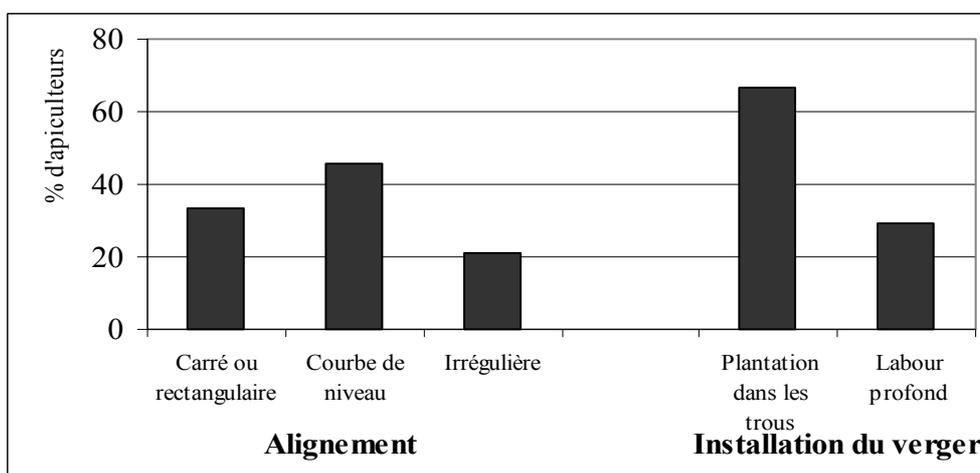


Figure 13 : Type d'alignement pratiqué et installation du verger (n=24)

On constate un pourcentage non négligeable d'agriculteurs (25 %) qui ne suivent pas complètement les techniques culturales (Figure 14 et 15). On trouve des apiculteurs qui ne font pas de greffage pour augmenter leur rendement, à cause d'un savoir-faire limité. La nécessité de l'habillage de racines dépend de l'appréciation personnelle de chaque paysan. Le manque de fumier de ferme se fait sentir en raison du manque de cheptel bovin, et son prix est exorbitant. De ce fait, on note l'utilisation de matière végétale comme fumure d'entretien. La taille des agrumes, même acceptée par la majorité des paysans, n'est pas exécutée correctement du fait du manque de matériel.

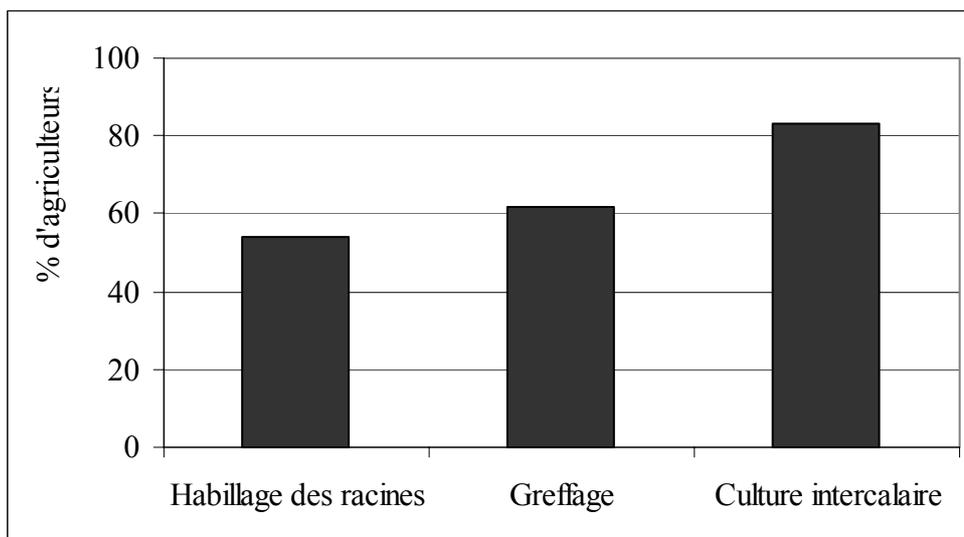


Figure 14 : ~~Itinéraires techniques divers~~ Autres techniques culturales (n= 24 d'agriculteurs)

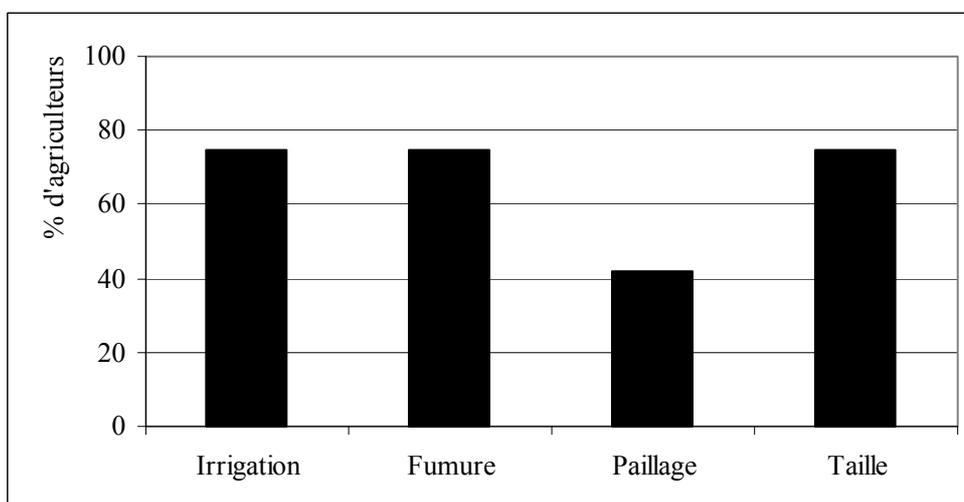


Figure 15 : Entretien des vergers (n= 24 agriculteurs)

6.1.3. Problèmes phytosanitaires

Les agriculteurs ont plus de connaissances sur les ravageurs que sur les maladies (Figure 16).

Rares sont les personnes interrogées qui associent les moyens de lutte (Figure 17) : la majorité des agriculteurs (75 %) pratiquent la lutte agronomique (techniques culturales qui permettent de diminuer l'attaque des ennemis des cultures, comme la date de semis, une fumure équilibré, la taille) ; la lutte chimique commence à avoir son importance dans la protection de l'agrumiculture. Comme produits phytosanitaires, ils utilisent surtout les insecticides, en particulier la deltaméthrine, la lambda cyhalothrine et le méthidathion. Les agriculteurs ne pratiquent pas l'épandage des fongicides. Les moyens mécaniques sont très peu

pratiqués : quelques agriculteurs ramassent et détruisent les chenilles trouvées dans le verger. Il n'y a aucune pratique de lutte biologique.

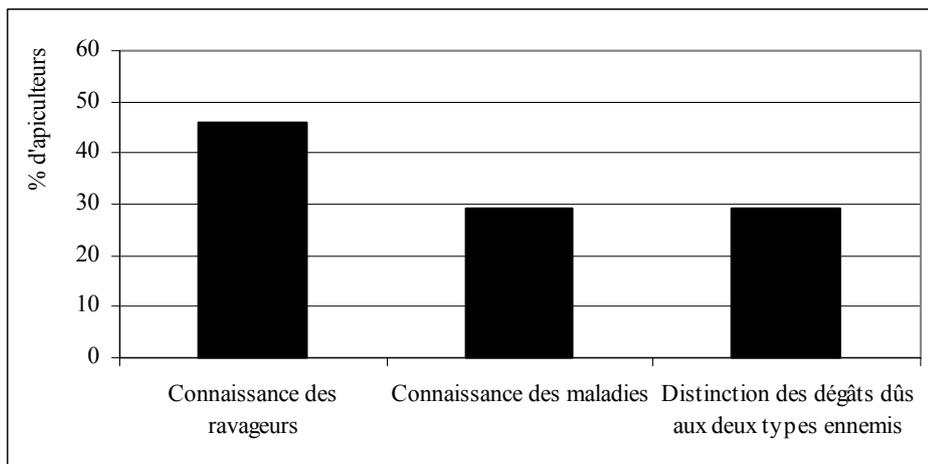


Figure 16 : Niveau de connaissance des agriculteurs concernant les ravageurs, les maladies et leurs dégâts (n= 24 agriculteurs)

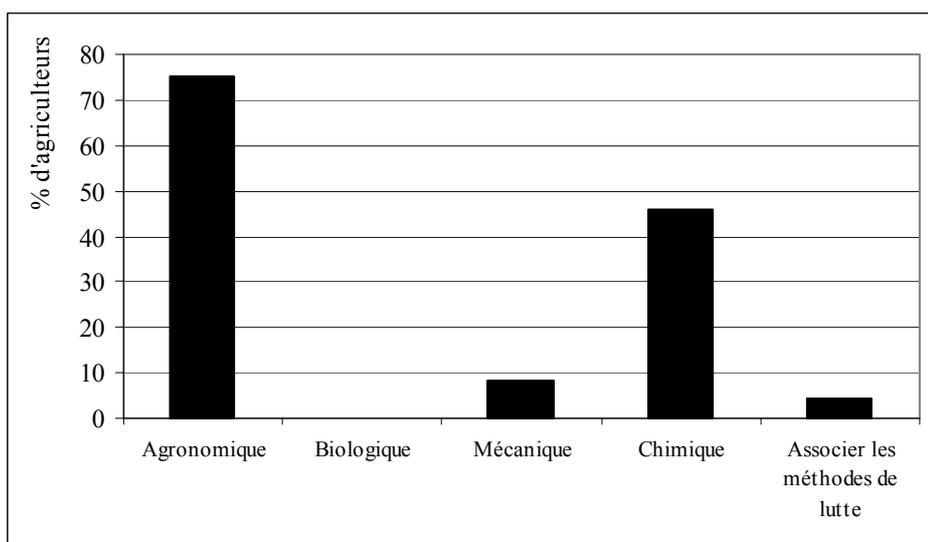


Figure 17 : Moyens de lutte pour protéger les agrumes (n= 24 agriculteurs)

Concernant la lutte chimique, les agrumiculteurs traitent de façon excessive leurs vergers dans le but d'avoir des fruits de bonne qualité le plus longtemps possible. Presque la moitié des adeptes de la lutte chimique effectuent parfois le surdosage par rapport aux normes prescrites (Figure 18).

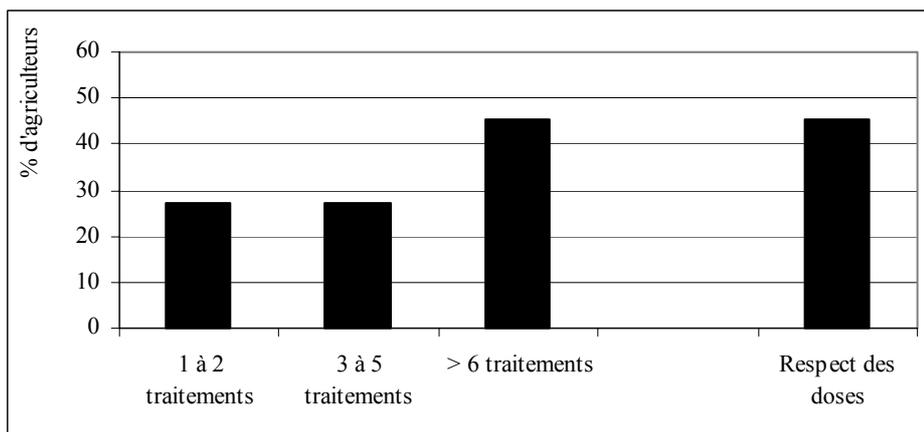


Figure 18 : Fréquence des traitements pendant une campagne, et respect des doses (n=11 agriculteurs)

La majorité des agriculteurs traitent systématiquement leur verger de février à novembre. Le choix s'oriente vers l'utilisation d'un produit efficace (cas de la deltaméthrine et de la lambda cyhalothrine) (Figure 19). La moitié des agriculteurs ne prennent aucune précaution lors du traitement : ils traitent leurs vergers pendant la période d'activité des abeilles. Les abeilles, en particulier les butineuses, ont un risque d'exposition au traitement phytosanitaire du fait de la généralisation du traitement et de leur emplacement, fréquemment près du verger et/ ou à proximité immédiate du village (Figure 20).

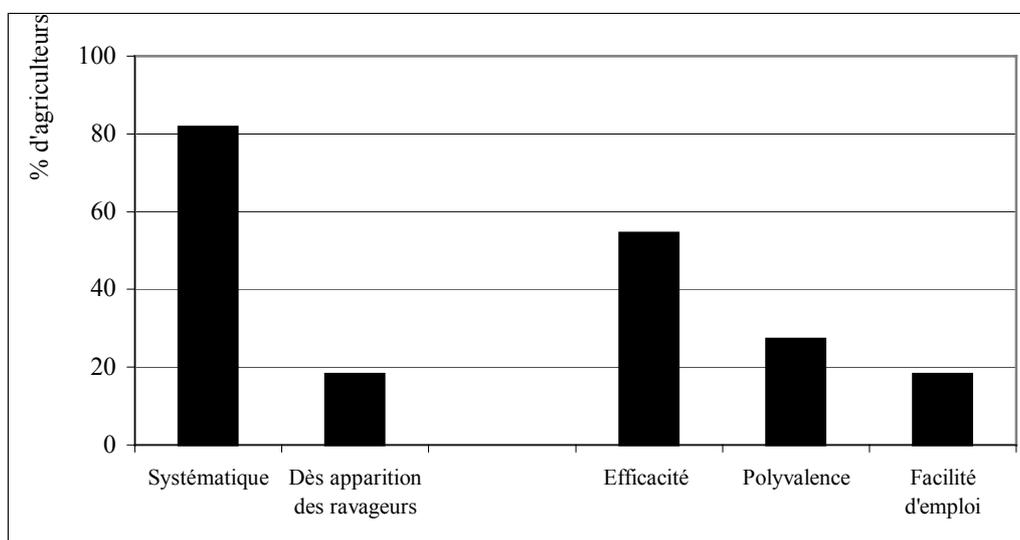


Figure 19 : Critère pour déclencher le traitement et pour choisir l'insecticide (n= 11 agriculteurs)

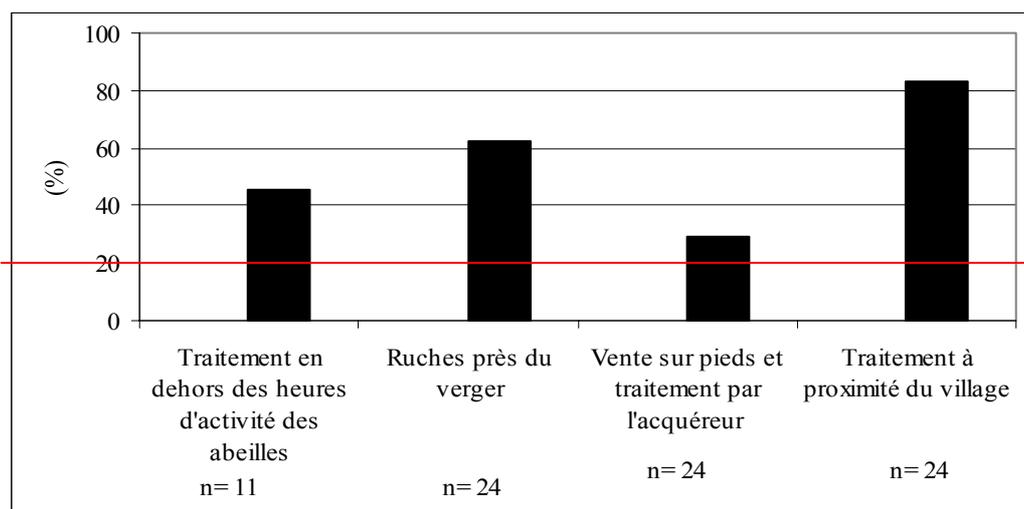


Figure 20 : Prise de précaution durant le traitement et généralisation du traitement phytosanitaire

6.1.4. Interaction entre l'apiculture et l'agrumiculture

La majorité des agriculteurs savent que les abeilles butinent les fleurs pour avoir du miel. Pourtant, ils ne réalisent pas l'action pollinisatrice et l'impact de cette action sur le rendement des orangers. Il est à noter que le rendement en fruit varie de 50 à 100 kg par arbre. Un tiers des agriculteurs constatent une augmentation des abeilles mortes devant l'entrée du nid après chaque traitement. La moitié estime d'après des constatations sur plusieurs années que le nombre des ruches tend à diminuer (Figure 21).

Figure 21 : Effets du traitement des vergers sur les ruchers

La majorité des agriculteurs constatent la nuisance des pratiques chimiques sur l'apiculture. Le prix élevé des produits et aussi le manque de savoir-faire empêchent les agriculteurs d'entreprendre la lutte chimique. Trente pour cent de ceux qui ne traitent pas leurs vergers, sont très réticents à cause de leur rucher (Figure 22). La majorité des agriculteurs sont motivés pour adhérer à un groupement agricole (Figure 23).

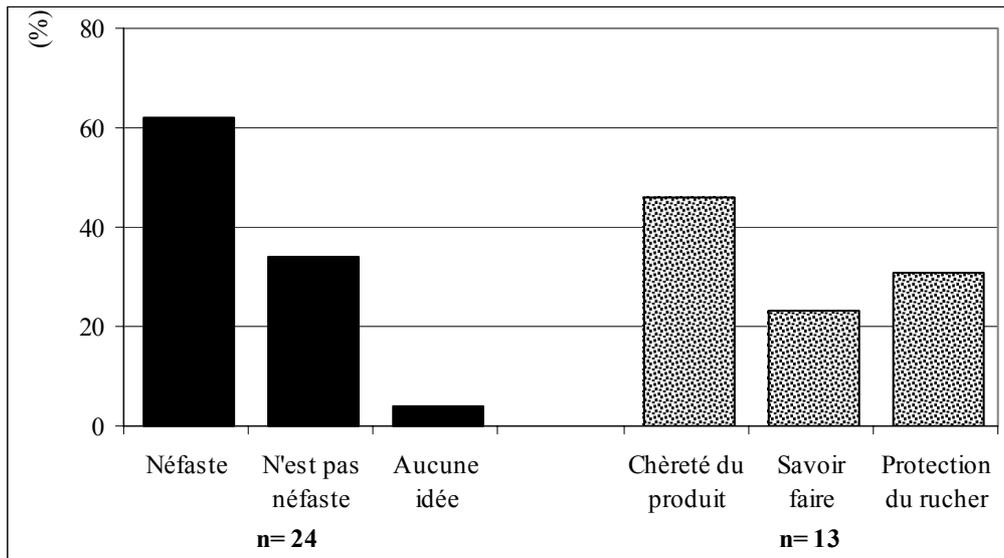


Figure 22 : Avis des agriculteurs sur le traitement phytosanitaire et les raisons avancées pour ceux qui ne le pratiquent pas

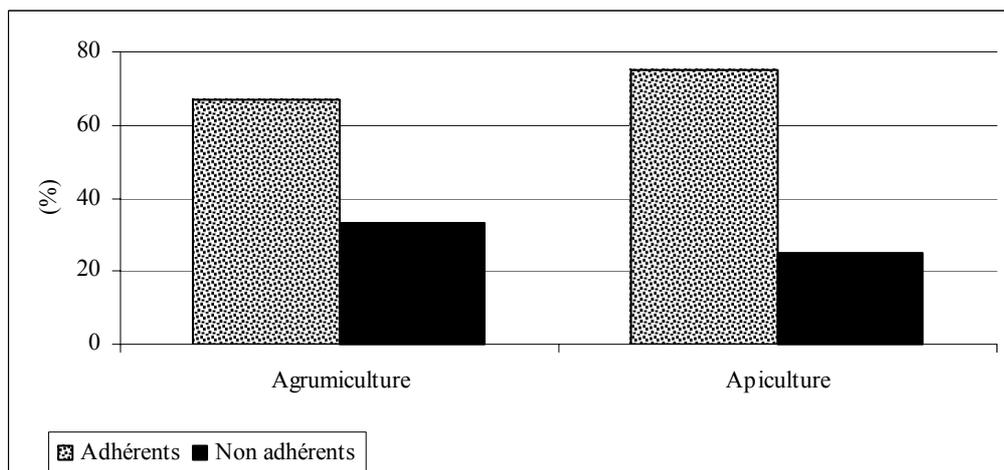


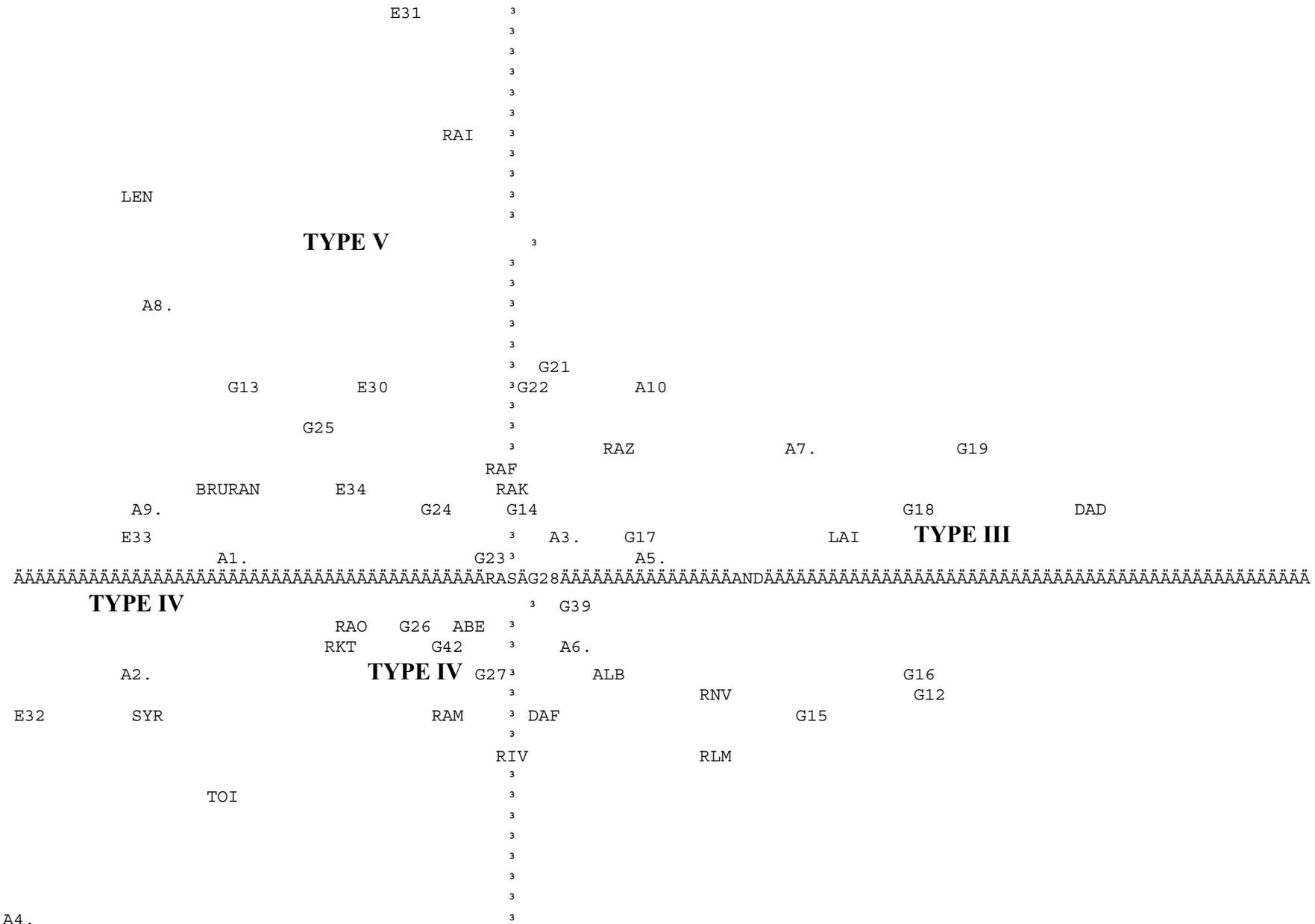
Figure 23 : Motivation des gens pour adhérer à une association (n= 24)

6.2. Résultats de l'analyse factorielle de correspondances ou A.F.C

* Liste des abréviations utilisées en A.F.C:

- A1 : 1 – 15 ruches
- A2 : Ruches améliorées et modernes
- A3 : Matériels apicoles incomplets + masque à voile + bois à la place d'enfumeur
- A4 : Peuplement par Essaimage artificiel + Enruchement
- A6 : Sans clippage de reine mais bricolage et ficelage de la cage à reine
- A5 : Sans piégeage d'essaims
- A7 : Ignorance du nourrissage des colonies
- A8 : Fréquence des récoltes de miel > 6
- A9 : Vente et autoconsommation de miel
- A10 : Apiculteurs individualisés
- G11 : Achat des jeunes plants au marché
- G12 : 50 – 100 pieds d'agrumes
- G13 : Sans greffage
- G14 : Sans matériel de greffage et/ou de taille
- G15 : Labour profond
- G16 : Plantation dans des trous
- G17 : Pas d'habillage des racines
- G18 : Plantation suivant les courbes de niveau
- G19 : Sans culture intercalaire
- G20 : Pratique de la taille de fructification et d'entretien
- G21 : Sans irrigation
- G22 : Sans fumure d'entretien
- G23 : Sans paillage
- G24 : Méconnaissance des ravageurs
- G25 : Méconnaissance des maladies
- G26 : Moyens de lutte uniquement agronomique
- G37 : Aucune ruche près du verger traité
- G38 : Sans vente sur pied
- G3 : Aucun traitement à proximité du village
- E30 : Méconnaissance de l'interaction entre l'apiculture et l'agrumiculture
- E31 : Traitement phytosanitaire ne présentant pas de nocivité à l'apiculture
- E32 : Aucune anomalie observée après chaque traitement
- E33 : Aucune diminution du nombre de ruches
- E34 : Agriculteurs individualisés

Figure 26 : Plan 2 3 AXE 2 HORIZONTAL AXE 3 VERTICAL



Points vus : A5, G17, G25, G26, A6, G26, DAD.

Points cachés : G11, G20, RAL, LID.

* Principe de lecture du graphe

En prenant le cas de la figure 24, l'axe horizontal sépare deux groupes d'individus : le type I et le type II et l'axe vertical sépare les types III et IV. L'analyse des données statistiques nous permet d'associer les points en un groupe et de faire sortir les caractéristiques de chaque type (cf § 3.3).

* Interprétation de l'AFC

Le résultat de l'A.F.C. fait apparaître 6 types d'agriculteurs caractérisés par les pratiques en agrumiculture et apiculture. ~~Ce sont les agriculteurs du type I et du type II.~~

L'axe 1 d'inertie 38,5 %, du plan 1- 2 et du plan 1- 3 (Figures 24 et 25) différencie les agriculteurs qui traitent leur verger et ceux qui ne le font pas.

Les agriculteurs du type I choisissent le moyen chimique qui leur semble efficace pour maîtriser les ennemis des cultures et ne laissent pas les intermédiaires s'occuper de leur production. Ce sont des agriculteurs adhérant un groupement (A.S.C.O.A). Ils ne pratiquent pas l'habillage des racines des jeunes plants. Sur le plan apicole, ces agriculteurs pratiquent des peuplements par essaimage artificiel et enruchement sans clipper la reine. Ils utilisent des matériels apicoles incomplets.

Le type II se caractérise par les agriculteurs qui ne connaissent pas les ravageurs et ne pratiquent que la lutte agronomique pour les contrôler. Ils ne traitent pas leurs vergers, les laissant en proie aux ennemis culturaux. Ils vendent sur pied les oranges pendant la période de floraison ou de nouaison, à des intermédiaires (ces derniers protègent le verger jusqu'à la récolte). Ce sont des agriculteurs individualisés. De plus, ils n'ont pas de matériel relatif au greffage et ou à la taille. Leurs vergers ne sont pas paillés.

Toutefois, il est utile de rappeler que les critères de possession de matériel apicole et de greffage, l'origine des plants et l'habillage de racines se rapprochent du centre de l'axe vertical (Figure 24) et sont de faible importance pour les types I et II.

L'axe 2 d'inertie 11,9 % du plan 1- 2 et du plan 2- 3 (Figures 24 et 26) différencie les agriculteurs qui exploitent de façon intensive leurs vergers, et ne prennent pas soin de leurs ruches de type amélioré, de ceux qui exploitent des ruches améliorées ou modernes en prenant soin, mais dont l'exploitation du verger reste marginale. Ce sont les agriculteurs du type III et IV respectivement.

Les agriculteurs du groupe III exploitent de façon intensive leurs vergers. Ils ont une cinquantaine voire une centaine de pieds d'agrumes. Ils respectent les techniques culturales

dès l'installation en les plantant suivant la courbe de niveau. Ils font des labours avant de confectionner des trous de plantation, ils ne font pas de cultures intercalaires entre les différents pieds. Ils entretiennent leur verger par les tailles de fructification et d'entretien. Sur le plan apicole, les agriculteurs du groupe III n'apportent pas de nourriture supplémentaire en cas de disette et ne font pas de piégeage d'essaims. Ils pensent que la protection chimique des vergers nuit à l'abeille. Ils déplorent en effet les conséquences de ce moyen de lutte car leurs colonies subissent les effets secondaires négatifs dudit traitement.

Les agriculteurs du type IV possèdent 1 à 15 ruches de type amélioré et moderne. Les produits des ruches sont surtout auto- consommés, puis une partie est écoulee sur le marché. Les individus de ce groupe nourrissent leur ruche en période de disette. Après chaque traitement, ils n'observent aucune anomalie au sein de leurs ruches et pense que le nombre de ruches ne diminue pas. Selon eux, la lutte chimique n'a pas d'effet nocif sur leur rucher.

La taille des arbres et le piégeage d'essaims ne sont pas des critères de différenciation des types III et IV car ces deux variables sont proches du centre de l'axe pour les deux plans.

L'axe 3 d'inertie 9 % des plans 1 3 et 2 3 (Figures 25 et 26) partage les points de vue des agriculteurs sur les interactions entre apiculture et agrumiculture, en particulier sur l'effet du traitement. Ce sont les agriculteurs du type V et VI.

Dans le type V, les agriculteurs ont peu de connaissance sur l'apiculture et sur l'agrumiculture ou ne cherchent pas à améliorer leur production. Ils exploitent de façon excessive leurs ruches, récoltant du miel plus de 6 fois par saison. Ils n'entretiennent pas leurs vergers (pas d'irrigation, pas d'apport de fumure d'entretien), ne font pas de greffage. Ils ne connaissent pas les maladies des agrumes. Les individus ne connaissent pas l'effet de l'apiculture sur l'agrumiculture tout en pensant que les traitements phytosanitaires ne nuisent pas à la première.

Dans le type VI, les agriculteurs connaissent l'utilité de l'abeille en agrumiculture. Ils ne pulvérisent pas de produits chimiques sur leurs vergers et leurs ruches ne se trouvent pas à côté des parcelles agrumicoles. Ils estiment que l'épandage des produits peuvent tuer leurs colonies. Heureusement qu'il n'y a pas de traitement effectué près de leur rucher ni aux environs de leur village. Ce sont des agriculteurs adhérant à une association.

7. Discussion

Nous avons constaté une grande disparité dans la conduite de l'agrumiculture et de l'apiculture, de l'intensif à l'extensif. L'agrumiculture se dissocie de l'apiculture car les agriculteurs considèrent seulement les effets positifs des arbres fruitiers pour les abeilles sans avoir une idée du rôle de la pollinisation dans l'amélioration du rendement en fruits. L'analyse factorielle des correspondances ne montre pas de corrélation entre l'exploitation rationnelle en agrumiculture (par rapport au nombre de pieds exploités) et en apiculture (par rapport au nombre de ruches améliorées).

Les ruches améliorées sont très nombreuses du fait de la disponibilité des matériels apicoles et le savoir-faire des agriculteurs. Grâce aux peuplements forestiers épars, dominés par des Eucalyptus de reboisement, les apiculteurs fabriquent eux-mêmes leurs ruches qui ont des formes et des dimensions variables. La fourniture en pointes et en accessoires demeure un problème majeur. Toutefois, on tend lentement vers une pratique utilisant des ruches modernes. La présence de quelques ruches traditionnelles localisées généralement dans un endroit situé loin de la voie de desserte (la route nationale) s'explique par l'absence de sensibilisation aux techniques apicoles. Comme l'effectif en ruches excède rarement une quinzaine, ce qui ne nécessite pas beaucoup d'interventions, l'agriculteur néglige la filière. Mais ceux qui sont conscients de la rentabilité de la filière y font plus attention. Ils ont des débouchés sûrs et stables pour le miel et la cire. Malgré la volonté des agriculteurs de multiplier leurs ruches, il est difficile de trouver des essaims du fait de l'absence de centre de multiplication faisant de l'élevage ; les modes de multiplication reposent surtout sur l'essaimage artificiel. Cependant, on ne peut pas améliorer le cheptel ou renforcer des colonies faibles par les techniques de multiplication par l'essaimage artificiel. L'élevage de reine ne se pratique pas. Il est à noter cependant que la race *unicolor* répond bien à l'élevage de reine même durant l'hiver où les ressources florales sont peu abondantes.

D'autre part, rares sont les personnes qui exploitent intensivement la filière de l'agrumiculture : la plantation ne dépasse pas en général une cinquantaine de pieds. Ce ne sont pas les jeunes plants qui manquent car des producteurs de jeunes plants les vendent à un prix abordable sur le marché. Mais, les agriculteurs ne pratiquent pas réellement l'itinéraire technique de la plantation d'arbres fruitiers. Ils ne suivent pas scrupuleusement les différentes modalités d'entretien même s'ils connaissent bien les différents types d'installation de vergers en fonction de la topographie. Les agriculteurs n'effectuent pas correctement les différents

entretiens des arbres du fait de l'absence de matériel pour la taille et l'absence de fumier. L'insuffisance des parcelles cultivables pousse les agriculteurs à réaliser des cultures intercalaires, or ils choisissent des plantes sources de problèmes (exemple tomate) car elles peuvent servir d'hôtes intermédiaires pour des ravageurs ou des maladies qui attaquent leur verger. Quelques agriculteurs s'abstiennent de cette pratique par manque de connaissance.

Concernant le problème phytosanitaire, aucun agriculteur n'arrive à distinguer les symptômes d'attaque d'insectes de ceux des maladies. Ils connaissent mieux les ravageurs. Or, l'identification correcte des ennemis des cultures conditionne la mise en route d'une bonne lutte. Malheureusement, aucune formation sur la protection des cultures n'est dispensée. La lutte agronomique englobe les techniques culturales (apport de fumure bien équilibrée) qui donnent de la vigueur aux plantations. La bonne pratique de la taille permet de diminuer l'attaque des insectes (cochenille) et des maladies (lichens, parasites ombrophiles). Cependant, les agriculteurs ne maîtrisent pas réellement ces techniques, qui ne suffisent d'ailleurs plus à protéger leurs vergers contre des ravageurs. Les agriculteurs font l'apport de fumure en quantité qui ne suffit pas aux besoins de la plante. Ceux qui pratiquent la taille avec du matériel emprunté disséminent la maladie. Et les parcelles des agriculteurs qui ne sont pas entretenues constituent un foyer d'infestation pour les autres vergers contigus. La majorité des agriculteurs ne pratiquent pas la lutte mécanique (le ramassage et la destruction des chenilles trouvées dans le verger) car cette méthode demande beaucoup de temps et d'efforts à investir. Un pourcentage non négligeable d'agriculteurs protège leurs vergers par l'épandage d'insecticides. Ce sont des agriculteurs qui ont les moyens financiers mais un faible niveau de connaissance des problèmes phytosanitaires. L'absence de formation en matière de protection phytosanitaire du verger et les matières actives non diversifiées mises sur le marché ne font qu'aggraver la situation. La plupart d'entre eux font des traitements systématiques sans faire l'identification et le comptage d'ennemis, conduisant ainsi à deux conséquences indésirables en lutte chimique : soit le traitement est effectué au moment inopportun car il n'y a pas d'ennemis à combattre, soit le produit est inadapté au ravageur ou à la maladie. De plus, une troisième conséquence pourrait même se présenter si on considère aussi l'abondance des ravageurs comme critère d'intervention : le traitement dès l'apparition du ravageur constitue un gaspillage car le plus souvent le seuil d'impact économique n'est pas atteint.

La lutte chimique est organisée sans prise en compte du cheptel apicole. L'époque d'épandage des produits a eu lieu entre les mois de février et de novembre, et surtout pendant la période de floraison pour protéger les fruits contre l'attaque de la mouche des fruits, *C.*

malagassa. La majorité des agriculteurs qui traitent ne prennent aucune disposition à l'attention des ruches durant le traitement. La plupart des ruches se situent à proximité des champs traités. Hormis quelques agriculteurs qui font les traitements soit très tôt le matin ou soit très tard le soir, les abeilles courent un risque d'exposition d'insecticide à tout moment.

On ne possède pas de chiffres concernant les mortalités d'abeilles consécutives à des traitements phytosanitaires à Madagascar, mais depuis l'emploi généralisé d'insecticides, les agriculteurs ont constaté des anomalies au sein de leurs colonies. Ils ont constaté une intoxication des abeilles particulièrement sur le plancher de vol, parfois accompagnée de la diminution du nombre de ruches à cause de la désertion des populations d'abeilles. Quelques agriculteurs signalent aussi des changements de comportement : les abeilles deviennent plus agressives. Les faits rapportés sur les intoxications d'abeilles dans les pays développés comme les USA et la France suggèrent que les problèmes existent aussi à Madagascar où aucune réglementation ne protège les abeilles. En 1967, le traitement de coton avec du carbaryl aux USA a causé la destruction de 70 000 colonies d'abeilles et de 33 000 colonies dans l'état de Washington où il a servi à traiter le maïs (Johansen, 1977). Le nombre de colonies est dépassé de 4,3 millions en 1985 à 2,7 millions en 1995 (Ingram *et al.*, 1996). En Europe, le nombre de ruches a diminué d'environ 16 % entre 1985 et 1991, et le nombre d'apiculteurs d'environ 8 % (Williams *et al.*, 1991). En France, l'effectif des apiculteurs et des ruches a respectivement diminué de 20 % et 30 % en 1996 et 2001 (Védrenne, 2002)

Même si les agriculteurs sont conscients du rôle de l'abeille lors du butinage des arbres fruitiers dans la production de miel, ils n'ont pas réalisé l'action positive sur les agrumes. Ceux qui sont informés (par l'intermédiaire de groupements) savent l'action néfaste des produits phytosanitaires et s'abstiennent de l'emploi d'insecticides aux dépens de leurs ruches. Pour eux, la diminution de rendement en agrumes provient seulement de l'attaque des ravageurs, or l'absence de pollinisateurs aussi peut diminuer le rendement jusqu'à un quart de la production (Pouvreau, 1984 ; Crane & Walker, 1984).

Le clémentinier caractérisé par un taux d'intercompatibilité plus élevé que celui de l'auto-compatibilité, constitue un excellent exemple du rôle irremplaçable de l'abeille pour la production fruitière (Pouvreau, 1984 ; Crane & Walker, 1984). Pouvreau (1984) montre un exemple de corrélation entre de la production fruitière et la production de miel : pour un hectare de clémentiniers cultivés à la station de Boufarik (Algérie), où les arbres sont espacés de 5 m x 5 m, la récolte moyenne en conditions de pollinisation libre s'élève à 46 800 kg de

fruits par hectare. Sur cette récolte, l'abeille, par la seule visite des fleurs, assure la production de 29 600 kg de fruits. En outre, Barbier (1964) a montré que les quatre ruches par hectare nécessaires à la pollinisation des arbres, ont permis d'obtenir un miel de haute qualité dont le poids peut être évalué approximativement à 120 kg par ruche. En comparant le rendement en miel et en fruits d'agrumes, les productions malgaches en miel (environ 8,5 kg par ruche) et en fruits (de 50 à 100 kg par arbre) sont très faibles.

8. Conclusion

Le climat et la flore existant à Madagascar constituent des conditions favorables pour le développement de l'apiculture. L'absence de maladies contagieuses est un atout considérable pour l'apiculture malgache. La destruction des plantes mellifères entraîne des problèmes de disette suivie de phénomènes de désertion, de pillage et de cannibalisme.

En apiculture, les agriculteurs pratiquent encore le système d'élevage traditionnel, ils n'apportent pas beaucoup de soins à leurs ruches et les nouvelles techniques sont rarement à leur portée. Le rendement faible en miel peut s'expliquer par le niveau technique appliqué et aussi l'effet de traitements phytosanitaires qui diminuent l'activité des abeilles.

L'agrumiculture assujettie à des attaques complexes de maladies et d'insectes ne permet pas d'obtenir un rendement satisfaisant. Les agriculteurs ne les maîtrisent pas : ils n'arrivent pas à différencier les ennemis des agrumes et ne connaissent pas les méthodes de lutte adaptées à chaque espèce de ravageurs. Ils protègent essentiellement leurs vergers par le traitement chimique systématique. Nous avons constaté que les agriculteurs ne réalisent pas l'importance de l'apiculture sur la culture d'agrumes, et probablement l'agriculture en générale. Le traitement excessif et généralisé des vergers pose un problème d'intoxication envers les pollinisateurs, et cet effet sera encore plus grave du fait du problème d'inadéquation des produits, du surdosage et du traitement pendant la période de floraison.

Il est nécessaire de former les agriculteurs en matière de lutte intégrée (diversification de méthodes de lutte, méthodes pour préserver les insectes auxiliaires, traitement à partir de seuils d'infestation, améliorer la lutte chimique), d'installer un service d'avertissement agricole et de renforcer aussi l'encadrement pour pouvoir améliorer le rendement apicole. Comme il est difficile d'éviter le traitement pendant la période de floraison où les arbres fruitiers sont plus vulnérables aux attaques des mouches de fruits, il faut conseiller aux agriculteurs d'utiliser des piègeages (constitués par des appâts d'hydrolysate de protéine diluée

dans l'eau où on ajoute 100 ml d'ammonium) ou des traitements insecticides qui ne sont pas nocifs pour les abeilles (endosulfan ou pyrimicarbe).

En guise de conclusion, cette étude ne prétend pas être complète en matière d'évaluation des impacts de traitement chimiques des agrumes sur les abeilles. D'autres recherches doivent être effectuées comme l'importance des insectes pollinisateurs dans l'amélioration de rendement en fruit des arbres fruitiers, l'évaluation des effets du traitement sur les abeilles et le rendement en miel.

Chapitre 3 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme de pucerons, en parcelles de choux

1. Introduction

Nous avons conduit l'expérimentation au champ pour tester les effets de l'application d'insecticides sur les parasitoïdes de pucerons. L'expérimentation est réalisée dans la région d'Alasora (Antananarivo), une des régions productrices de légumes, où les agriculteurs réalisent trois traitements en cours de végétation, et même plus sur certaines cultures, sans se soucier apparemment ni de la longueur du cycle végétatif de la plante, ni de la technique d'utilisation (Rakotoarimanana, 1995).

Nous avons choisi le chou, *Brassica pekinensis* L. (Crucifère), dont la consommation humaine est importante, et dont la culture maraîchère est intensive, notamment dans la région d'Antananarivo. Il est cultivé pour le feuillage. Les pucerons sont des Homoptères ravageurs de cette culture, après les chenilles défoliatrices (Reckhaus, 1997). Le traitement effectué contre les chenilles pourrait avoir des effets sur la faune utile et notamment sur les Hyménoptères endoparasites de pucerons.

Les deux premières années (novembre 1999- février 2000 et novembre 2000- février 2001) ont été consacrées à l'étude de l'effet de traitements insecticides sur les pucerons et leurs parasitoïdes ; la troisième année (novembre 2001- février 2002) a été consacré à l'inventaire des prédateurs et parasitoïdes de pucerons.

Un bref aperçu des pratiques paysannes en matière de protection des cultures maraîchères dans la région d'étude et l'inventaire des insectes auxiliaires de pucerons étaient nécessaires pour pouvoir analyser le problème. Pour déterminer les effets de traitements insecticides sur les populations de pucerons et de parasitoïdes, nous avons comparé les niveaux d'infestation par les pucerons et leurs espèces parasites, entre parcelles traitées et parcelles non traitées, avant et après le traitement insecticide. Ceci permet de déduire la capacité de parasitisme après un traitement insecticide. Nous avons identifié les insectes récupérés avec l'aide de Monsieur Jean Michel Rabasse, UMR ROSE, INRA d'Antibes.

2. Pucerons de choux et biologie

On rencontre sur le chou : *M. persicae*, *Brevicoryne brassicae* et *Lipaphis pseudobrassicae*. Ce sont les ravageurs les plus importants après les chenilles défoliatrices. Les colonies denses affaiblissent les plantes en prélevant la sève et en permettant le développement des maladies. Parfois, la présence d'individus, même en l'absence de dégât, empêche la commercialisation de certains légumes. Leurs nuisances périodiques sont parfois difficiles à enrayer parce que la culture est fragile ou que les pucerons sont difficilement accessibles.

Aucune étude n'a été faite sur la biologie des pucerons en culture de choux à Madagascar. La description suivante est basée sur des études faites en France, la différence repose sur l'absence des cycles de développement anholocycliques.

Les pucerons sont des insectes hétérométaboles, les quatre stades larvaires mènent le même mode de vie que les adultes. Chez les ailés, les ptérothèques apparaissent au 3^{ème} stade larvaire, et les ailes n'apparaissent réellement qu'après la mue imaginale. Les pucerons aptères assurent la reproduction et les ailés la dispersion des colonies (Miyazaki, 1987). La production d'ailés peut être induite par des contraintes environnementales telles que la photopériode, la densité, la qualité nutritionnelle de la plante hôte (Dixon, 1988 a, c).

Les pucerons présentent plus ~~ieurs~~ ~~de deux~~ générations par an. Ils ont deux modes de reproduction : sexué et asexué par parthénogenèse. Ils sont vivipares. Le mode de reproduction parthénogénétique permet d'expliquer leur taux d'accroissement élevé (Dixon, 1988 b).

M. persicae peut avoir deux types de cycles différents. Le cycle peut être holocyclique, dioecique alternant entre des hôtes primaires du genre *Prunus* et des hôtes secondaires herbacés ou anholocyclique sur les hôtes secondaires lorsque l'hôte primaire est absent ou lorsque le climat ne permet pas aux pucerons de survivre sur l'hôte primaire. Les pucerons se maintiennent tout l'hiver sous forme d'adultes parthénogénétiques (Hullé & Ighil, 1999).

Dans la nature, les ennemies des pucerons comme les Coccinellidae, Syrphidae, Neuroptères et Hyménoptères parasitoïdes limitent leur pullulation (Powell, 1982 ; Stary, 1988 ; Hågvar & Hofsvang, 1991). Les parasitoïdes de pucerons sont constitués

principalement de deux familles d'Hyménoptères, les Aphidiidae (famille aussi classée comme sous-famille des Aphidiinae, dans la famille des Braconidae) et les Aphelinidae (Chalcidiens) (Sary, 1988 ; Hågvar & Hofsvang, 1991). Les Aphidiidae représentent la famille la plus importante, avec plus de 400 espèces répertoriées, et la plus spécialisée. Les genres les plus représentés sont les *Adialytus* Förster, *Aphidius* Nees, *Diaeretiella* Sary, *Ephredus* Haliday, *Lipolexis* Förster, *Lysiphlebus* Förster, *Monoctonus* Haliday, *Pauesia* Quilis, *Praon* Haliday et *Trioxys* Haliday (Sary, 1988).

3. Présentation de la zone d'étude

3.1. Localisation

La commune d'Alasora se trouve à la périphérie Sud- Ouest d'Antananarivo. Elle compte environ vingt villages, avec une superficie de 42 Km² et une densité moyenne de 547,6 habitants/km². L'activité de la population est surtout agricole. La commune d'Alasora est morcellée en 1 400 parcelles dont les surfaces moyennes exploitées en agriculture varient de 150 à 1 750 m² alors qu'elle dispose encore de 50 % de la superficie totale favorable aux cultures pluviales mais qui n'est pas exploitée. Pour les cultures maraîchères, les surfaces exploitées dépassent très rarement les 1 000 m².

La commune d'Alasora est constituée par une plaine argileuse et alluvionnaire généralement aménagée en rizières, jalonnée au Sud par des collines dont la plupart sont ferrallitiques et arrosée par le fleuve Ikopa. Elle se caractérise par une zone très restreinte d'une forêt primaire et quelques zones de reboisement d'Eucalyptus. Une grande partie du territoire est constituée d'une zone de savane et de steppe à *Aristida* utilisée comme pâturage.

3.2. Climat

La commune d'Alasora a un climat tropical caractérisé par des températures variant de 9 à 32 °C avec une moyenne annuelle de 20 °C, et qui comprend deux saisons : l'une pluvieuse et moyennement chaude, de novembre à mars, et l'autre fraîche et relativement sèche durant le reste de l'année. L'analyse des données climatiques entre 1961 et 1990 montre que la moyenne de la pluviométrie annuelle est de 1365 mm en 118 jours avec un maximum de 1456,3 mm en 129 jours (source : Direction de la Météorologie et de l'Hydrologie d'Antananarivo- Ampandrianomby).

Les températures ne présentent pas trop de risque pour les diverses productions agricoles, sauf dans les hautes altitudes où on enregistre quelques dégâts de gel. Les précipitations annuelles ne présentent pas de grande différence sur les statistiques de 20 ou 30 ans, la répartition varie d'une année sur l'autre et comporte parfois des mois secs trop longs au début de la saison, ne permettant pas un bon démarrage de la campagne agricole.

3.3. Situation économique

Les productions agricoles prospèrent dans la région et se diversifient mais la majorité des habitants s'adonnent à la culture du riz et des légumes. On n'observe pas de cultures industrielles. Dans l'ensemble, le calendrier agricole est presque étendu sur toute l'année avec un rythme accéléré pendant la saison pluvieuse et fonction des types de cultures. Les cultures vivrières (riz, manioc, maïs, patate douce) occupent plus de 50 % des superficies cultivées dans l'ensemble de la Commune, et la riziculture occupe plus de 42 % de la superficie totale (Source : Min Agri).

Les cultures maraîchères occupent les bas fonds alluvionnaires ; elles constituent une des activités qui permettent aux agriculteurs d'avoir un apport financier régulier. Elles n'ont pas fait l'objet d'encadrement par des organismes oeuvrant dans la protection des cultures, mais elles ont pris un essor considérable. On trouve tous les types de légumes : légumes racines (carottes, betterave), légumes fruits (tomates, concombres, haricot), tubercules (pomme de terre), légumes feuilles (crucifères : choux chinois ; salades).

4. Analyse des pratiques paysannes en matière de protection des cultures maraîchères

4.1. Méthodologie

Nous avons mené une enquête qui consiste à recueillir les informations sur le système de culture et le niveau de connaissance des agriculteurs en matière de protection des cultures (les principaux ravageurs et maladies sur leurs cultures, les différents moyens de lutte appliqués et leur efficacité).

Notre enquête est menée dans la commune d'Alasora, endroit où nous avons étudié les effets du traitement sur l'action des parasitoïdes. Cette zone a été choisie parce que la culture maraîchère y tient une place importante, d'autant plus qu'elle ne connaît pas encore

d'attaques sévères des ravageurs et maladies. Notre enquête s'est réalisée sur 30 agriculteurs pris au hasard (deux agriculteurs par village) car les informations obtenues par les agriculteurs restent à peu près les mêmes.

4.2. Analyse des itinéraires techniques

La prédominance des techniques culturales ne demandant pas beaucoup de soin persiste encore dans la région d'Alasora. En effet, la majorité des agriculteurs pratiquent encore les méthodes traditionnelles : absence de véritable rotation, mauvaise préparation du sol, utilisation de semences auto-produites, entretien peu soigné des cultures, mauvais apport en éléments fertilisants. L'existence d'un point d'eau reste le principal critère pour choisir les parcelles. La rotation des cultures est faite en fonction de la disponibilité des semences et par habitude. La plupart des cultivateurs effectuent le labour en fonction des types de culture : labour profond pour les légumes racines, peu profond pour les légumes feuilles et les légumes fruits. Le sarclage associé avec le binage se pratique couramment après une forte pluie ou une longue période de sécheresse. Néanmoins, peu d'entre eux pratiquent le buttage pour que les racines des plantes puissent se développer.

4.3. Importance des problèmes phytosanitaires

La majorité des agriculteurs (86,49 %) connaissent la présence des ravageurs et des maladies sur les cultures ; seulement une minorité a la capacité de distinguer les différents ennemis et leurs dégâts. Les différentes attaques de ravageurs posent un grand problème à 73,12 % des maraîchers. C'est normal car la persistance d'utilisation des semences auto-produites entraîne leur dégénérescence qui se traduit notamment par une baisse de la capacité germinative et du niveau de résistance vis-à-vis des ravageurs et maladies.

La majorité des agriculteurs (67,5 %) traitent leurs parcelles dès une attaque partielle d'ennemis, ils considèrent les autres moyens de lutte comme un complément. Ils jugent le traitement chimique comme efficace et trouvent que les méthodes mécaniques (arrachage d'une partie de la plante ou de la plante entière atteinte de maladies et élimination manuelle d'insectes) nécessitent beaucoup de temps et de travail. La lutte agronomique (choix des variétés plus résistantes, nettoyage des parcelles et une bonne rotation) est adoptée par une minorité. L'utilisation des plantes insecticides (tephrosia, neem, piment) est jugée avoir une efficacité relative. Ils ne connaissent pas la présence des auxiliaires ni même des prédateurs.

5. Inventaire des insectes auxiliaires de pucerons sur choux

5.1. Ennemis naturels des pucerons

Les pucerons sont attaqués par un large éventail d'ennemis naturels. Coccinellidae et Syrphidae sont des prédateurs spécialisés sur des Aphididae et d'autres insectes Homoptères ; les araignées sont des prédateurs polyphages. Des parasitoïdes et des hyperparasites, (Hyménoptères) contribuent aussi à diminuer l'effectif de la population de pucerons. Lors de notre essai en janvier 2000, nous avons constaté l'action des mycoses qui ont provoqué une épizootie spectaculaire sur les colonies de pucerons.

Les larves et les adultes de coccinelles, et les larves de syrphes sont des prédateurs riees. Ces larves carnivores sont dotées de pièces buccales broyeuses. Concernant les parasitoïdes et les hyperparasites, les femelles pondent généralement un seul œuf par puceron. Les larves se développent à l'intérieur des pucerons et passent généralement quatre stades larvaires. A la fin du stade larvaire, la peau du puceron se durcit et change de couleur, et on parle de momie, constituant le stade nymphal du parasitoïde protégé par la cuticule du puceron transformée en cocon (Hågvar & Hofsvang, 1991 ; Stary, 1988).

Dans cette étude, nous nous limitons aux entomophages. Leur degré d'efficacité reste néanmoins controversé pour une utilisation en protection des végétaux. En effet, le retard de l'action des aphidophages par rapport au pic du ravageur suggère que le déclin des pucerons provient ne de la dégradation de la plante hôte. Toutefois, des études ont montré l'efficacité de l'impact des auxiliaires sur les colonies de pucerons en pleine croissance (Rabasse, 1983 ; Kuklinski, 2000).

L'évaluation de l'importance des insectes auxiliaires qui participent à la régulation de la population de pucerons dans le temps, nous a permis de connaître les espèces existantes, leur importance et leur efficacité par rapport à la pullulation de pucerons.

5.2. Matériel et méthode

5.2.1. Dispositif expérimental

Nous avons installé trois parcelles élémentaires d'une superficie de 30 m² chacune, espacées de 50 cm, à l'endroit où nous avons réalisé l'étude pour tester les effets de pesticides sur les parasitoïdes de pucerons (Figure 27). Le semis est réalisé le 08 novembre 2001. Les semences de *B. peginensis* utilisées proviennent d'un Centre de multiplication, Laniera (Antananarivo).

Les parcelles élémentaires reçoivent les mêmes entretiens (démariage, sarclage, fumure d'entretien). Nous avons épandu de l'urée (150 kg / ha : quantité recommandée après une étude pédologique du sol en général à Madagascar) un mois après le semis. Aucun traitement n'est réalisé quel que soit le degré d'attaque de chenilles défoliatrices.

Figure 27 : Site d'expérimentation situé à Alasora- Antananarivo

5.2.2. Suivi des populations

L'évaluation commence trois semaines après le semis. On effectue des évaluations hebdomadaires jusqu'à 7 semaines après le semis. Après, nous devons arrêter l'observation car la plupart des plantes sont détruites par les chenilles défoliatrices.

Nous avons appliqué le comptage direct pour évaluer la population de pucerons et de prédateurs (larves ou adultes sur chaque plant d'observation) et dénombré les pucerons momifiés pour déterminer l'action des parasitoïdes. Le comptage est réalisé sur 10 pieds pris au hasard dans chaque parcelle élémentaire. Les comptages successifs sont faits sur les mêmes pieds.

Cette méthode a l'avantage de pouvoir être utilisée dans n'importe quelle condition, et permet de déterminer d'une façon assez exacte les variations numériques d'une espèce donnée en fonction du temps sur le peuplement végétal. Elle tient compte des phénomènes d'émigration et d'immigration d'individus parasités ou non parasités qui peuvent considérablement changer la proportion des deux populations. Certains aphides ont l'habitude, à l'approche de la momification, de quitter leur site d'alimentation et de se rendre dans un endroit caché.

Par contre, il serait illusoire de vouloir en tirer des conclusions précises sur l'abondance relative des diverses espèces car ces observations sur les plantes ne donnent pas le nombre des adultes errants qu'il faudrait capturer au filet- fauchoir.

Tous les prédateurs et les momies observés sont prélevés en vue d'une identification à l'INRA d'Antibes. On élève les larves des prédateurs pour pouvoir identifier les adultes.

5.3. Résultats

5.3.1. Evolution des pucerons et d'insectes auxiliaires

La population de pucerons augmente en effectif suivant une pente assez faible. Les parasitoïdes et les prédateurs sont présents dès le début du comptage. Nous avons constaté que les pucerons évoluent indépendamment de l'effectif de momies qui reste constant et faible. Les prédateurs se diversifient en espèces et augmentent en nombre en fonction de la taille de la colonie de pucerons (Figures 28 ; 29).

Les prédateurs observés sur les plantes sont au nombre de 0,5 à 1,5 pour 100 pucerons. Le taux de parasitisme est nul pendant les trois premières semaines puis atteignent 4 et 6 % les deux dernières semaines d'observation.

Figure 28 : Nombre de pucerons, d'Hyménoptères parasites et de prédateurs par pieds en parcelle de chou (Barre d'erreur type, n= nombre de pieds observés)

Il est à noter que les taux de parasitisme (Figure 298) sur les pucerons sont calculés d'après la formule préconisée par Reboulet (1986) :

$$(\text{Momies à J2}) / (\text{pucerons à J1}) * 100 \quad (1)$$

où J1 correspond au jour du dénombrement des pucerons et J2 correspond au jour du contrôle suivant, au cours duquel les momies de pucerons parasités à J1 sont dénombrés. On applique cette formule pour J1 et J2 espacés de 7 à 10 jours.

D'après les remarques faites par Van Driesche (1983), la formule de Reboulet (1986) reste valable par rapport à la formule simpliste : $(\text{Momies à J2}/(\text{pucerons à J2}) * 100)$ (2)

Elle tient compte aussi de la durée du développement du parasitoïde qui est normalement plus longue que celle des hôtes non parasités. Connaissant le stade d'attaque et

le stade d'émergence du parasitoïde, la formule de Reboulet (1) prend en considération les stades intermédiaires. En revanche, les individus parasités sont plus facilement attaqués par des prédateurs ou autres ennemis que les individus non parasités, ce qui entraîne une sous estimation du taux de parasitisme.

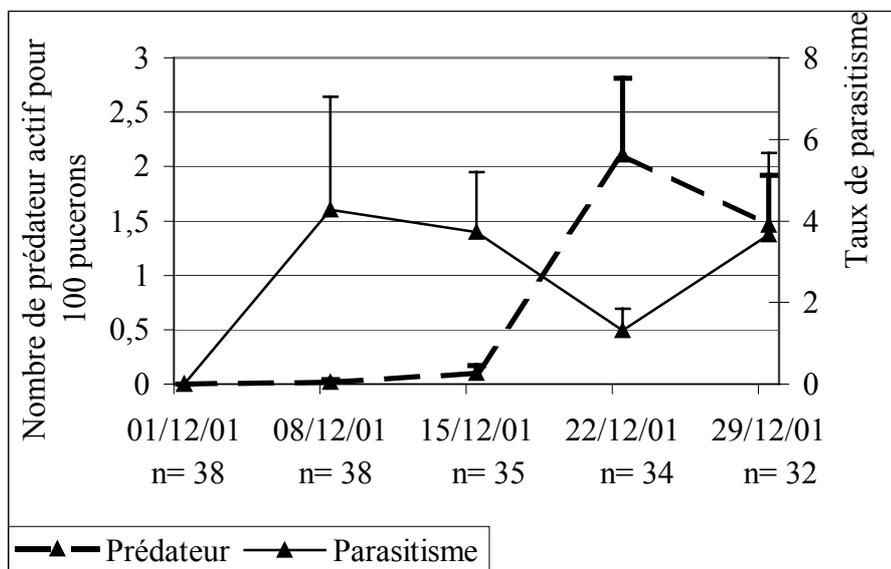


Figure 29 : Nombre de prédateurs actifs (larves de syrphes et larves + adultes de Coccinelles) par rapport à la population de pucerons et taux de parasitisme (Barre d'erreur type)

5.3.2. Espèces recensées

Nous avons rencontré principalement les Coccinellidae (Coleoptera), quelques Syrphidae (Diptera), des Aphidiinae et des hyperparasites (Hymenoptera). Le tableau 2 récapitule les espèces rencontrées au cours des trois années d'étude. Les prédateurs ont été principalement étudiés en 2002.

	Espèces	Ordre- Famille	Années
Pucerons	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer)	Hémiptera- Aphididae	1999-2002
	<i>Brevicoryne brassicae</i> L.		2002
	<i>Lipaphis pseudobrassicae</i> (Kaltenbach)		1999-2002
Parasitoïdes	<i>Diaeretiella rapae</i> (M'Intosh)	Hymenoptera-	1999-2002
	<i>Aphidius colemani</i> Viereck	Ichneumonoïdea-	1999-2002
	<i>Aphidius picipes</i> (Nees)	Braconidae- Aphidiinae	2002
	<i>Syrphophagus</i>	Hymenoptera- Chalcidoidea- Encyrtidae	1999 et 2002
Prédateurs	- <i>Cheilomenes simulans</i> (Crotch) ou <i>C. triangulifera</i> (Mulsant) - <i>Cheilomenes sulphurea</i> (Olivier) - <i>Elpis dolens</i> (Mulsant) - <i>Scymnus constrictus</i> (Mulsant)	Coleoptera- Coccinellidae	2002
	- Une espèce non identifiée - <i>Paragus sp.</i> (Macquart)	Diptera- Syrphidae	2002

	Genres	Ordre- Famille	Années
Hyperparasitoïdes	- <i>Asaphes</i> Walker - <i>Pachyneuron</i> (Bouché) Walker	Hymenoptera- Pteromalidae	1999- 2002

Tableau 2 : Insectes auxiliaires de pucerons de choux identifiés

Auxiliaires	08-12-01	15-12-01	22-12-01	29-12-01	05-01-02
Prédateurs :					
<i>S. constrictus</i>	0	1	2	8	4
<i>C. sulphurea</i>	0	0	0	3	10
<i>C. simulans</i>	0	0	0	1	6
<i>E. dolens</i>	0	0	0	0	5
<i>Syrphidae</i>	2	0	0	0	0
Parasitoïdes :					
<i>D. rapae</i>	0	1	0	0	28
<i>A. colemani</i>	1	1	1	0	5
<i>A. picipes</i>	0	1	0	0	1
<i>Syrphophagus</i>	1	1	6	10	6
Hyperparasites :					
<i>Asaphes</i>	0	2	0	0	6
<i>Pachyneuron</i>	3	0	1	0	24

Tableau 3 : Chronologie d'apparition des insectes auxiliaires de pucerons identifiés

5.4. Caractères distinctifs des auxiliaires

5.4.1. Prédateurs

5.4.1.1. Coccinellidae (Cf § Annexe 3)

* Morphologie

Les coccinelles adultes ont un aspect bombé. La protrusion du prothorax couvre partiellement la tête et les yeux. Elles ont cinq sternites visibles, des massues antennaires et quatre segments tarsaires dont le troisième est généralement dissimulé par le deuxième segment bilobé. La plupart des espèces peuvent spontanément exsuder un liquide jaune puant de leur joint fémuro- tibial (Kuklinski & Borgemeister, 2001).

On ne peut pas distinguer au stade larvaire les *C. simulans*, *C. sulphurea* et *E. dolens*. L'identification doit être réalisée au stade adulte.

- *C. simulans* (Identification malgache (Kuklinski & Borgemeister, 2001)) ou *C. triangulifera* (Identification française) (on se demande s'il s'agit d'un synonyme ou de deux espèces différentes)

Les adultes sont caractérisés par des élytres jaunes avec un bord intérieur noir formant une mince ligne médiane. L'extrémité postérieure présente une tache blanche sous un mince ruban noir. Le pronotum¹ est caractérisé par un dessin triangulaire blanc.

- *C. sulphurea*

C'est une Coccinelle de grande taille (L= 6,2 mm ; l= 4,5 mm), glabre et luisante dessus, couverte sur sa face inférieure d'une pilosité fine et claire. La tête subquadrangulaire, les antennes (11 articles) et les pièces buccales sont jaunes. Le pronotum est légèrement plus étroit que les élytres à la base. Il est largement échancré à l'avant, noir, avec deux taches jaunes antérolatérales réunies à l'avant par une bande de même couleur. L'écusson est noir. Les élytres sont noires, marquée chacune de 4 taches jaune vif ovoïdes et de 2 taches jaune vif pigmentées de rouge dans leur partie médiane : l'une trilobée, l'autre en croissant obtus (Sicard, 1909 ; Chazeau *et al.*, 1974 ; Kuklinski & Borgemeister, 2001).

- *E. dolens*

Les adultes se caractérisent par leur coloration noir brillant et leur taille de 5 mm de long. Ils ont deux points rouges très voyants près de l'extrémité antérieure des élytres. Le

¹ Face supérieure ou dorsale du prothorax

mâle a deux taches blanches sur le pronotum, tandis que la femelle porte des traces de jaune sur la tête et le bord antérieur du pronotum (Sicard, 1909 ; Kuklinski & Borgemeister, 2001).

- *S. constrictus*

C'est une Coccinelle de petite taille, rétrécie en arrière, convexe, robuste et couverte sur tout le corps d'une pilosité fine (L= 1,8 mm ; l= 1,4 mm). La tête subquadrangulaire, à front jaune pour le mâle ou rembruni pour la femelle. Les antennes courtes ont 11 articles. Le pronotum est trapézoïdal, noir taché de jaune aux angles antérieurs, les taches pouvant se joindre en une bande jaune sur la marge antérieure. L'écusson est petit, noir. Chaque élytre, noir, est marqué d'une tache jaune médiane allongée, n'atteignant pas la marge antérieure, mais s'étendant jusqu'au bord postérieur (Sicard, 1909 ; Chazeau *et al.*, 1974 ; Kuklinski & Borgemeister, 2001). Le corps des larves est complètement dissimulé par des excroissances de cire blanc épais. La pupa est recouverte de l'exuvie larvaire.

* **Biologie**

Les femelles pondent en groupe des œufs, jaune clair ou orangé, ovales à fusiformes et de 1 à 1,5 mm de longueur, sur la face inférieure des feuilles, près des colonies de pucerons généralement. Les œufs éclos passent ensuite par quatre stades larvaires. Généralement, les larves de Coccinellinae portent des protubérances épineuses, le dos noir tacheté de blanc et les Scymninae se caractérisent par des excroissances cireuses blanches. La durée de vie larvaire varie de 9 à 18 jours selon l'espèce et la saison. Le dernier stade est le plus vorace. Les pupes sont attachées aux feuilles par leur cauda.

Les Coccinelles se nourrissent de plusieurs espèces de pucerons et peuvent s'attaquer aux psylles, aux aleurodes et probablement aux acariens (Chazeau *et al.*, 1974). Les larves et les adultes de Coccinellidae peuvent freiner la pullulation de pucerons par leur importance et leur voracité surtout pendant leur vie larvaire. En laboratoire, une larve de *S. constrictus* consomme 124 pucerons en 8 jours, une larve de *C. sulphurea* consomme 436 pucerons durant 13 jours, et *E. dolens* consomme 241 pucerons en 10 jours (Kuklinski & Borgemeister, 2001).

S. constrictus est toujours présente pendant les observations. On n'observe *C. simulans* et *C. sulphurea* qu'à partir de la phase de croissance exponentielle des pucerons. Et *E. dolens* n'apparaît que très tardivement (Tableau 3).

5.4.1.2. Syrphidae (Cf § Annexe 3)

* Morphologie

La larve de Syrphidae non identifiée est vert clair garni d'une bande blanche dorsale. La puppe est brune, ovale.

P. borbonicus est brun rouge sur le dos et jaune sur les côtés. Tout son corps est parsemé de protubérances effilées, et la puppe de forme ovale est épineuse. L'adulte est plus compact de couleur noire. Le diptère est caractérisé par la présence d'une seule bande transversale sur l'abdomen (Kuklinski & Borgemeister, 2001).

* Biologie

Les adultes sont des mouches floricoles, et seules les stades larvaires sont carnivores. Les femelles pondent des œufs isolés à l'intérieur des colonies. Les œufs sont difficiles à repérer. Les larves sont essentiellement aphidophages. Leur appareil buccal est muni de stylets avec lesquels ils percent et sucent leur proie en la soulevant. Pendant les 3 derniers jours de leur vie, les larves consomment 240 *A. gossypii* (Kuklinski & Borgemeister, 2001).

Les Syrphidae ne sont présents que de façon éphémère (Tableau 3) ce qui a été confirmé par les études faites par Kuklinski & Borgemeister (2001).

5.4.2. Parasitoïdes

* Morphologie (Stary, 1987 ; Powell, 1982)

Les Aphidiidae (aussi classés comme sous-famille des Aphidiinae dans la famille des Braconidae) sont des parasites noirs et fins avec des pattes brunes, de longues antennes et des nervures frappantes sur les ailes. Leur grandeur dépend de la taille du puceron dont ils sont nés, mais est en moyenne de 2 mm (Figure 30). Les femelles ont un abdomen pointu, et les mâles arrondi.

- *D. rapae* se caractérise par les nervures récurrentes et médianes effacées sur les ailes antérieures. Cette espèce possède 13 articles antennaires.

- *A. colemani* se caractérise par deux stries très marquées sur les côtes du pétiole. Le pétiole est plus clair. Les espèces que nous avons identifiées ont 16 ou 17 articles antennaires pour les femelles et 19 pour les mâles. Les ailes antérieures ont des nervures récurrentes et médianes.

- *A. picipes* se caractérise par le pétiole plus sombre et les côtes ont quatre stries. Cette espèce possède 17 ou 18 articles antennaires. Les ailes antérieures ont des nervures récurrentes et médianes.

Figure 30 : *Aphidius sp.* sur *M. persicae* (Photo J. Gambier, INRA Antibes)

- *Syrphophagus* se caractérise par sa taille minuscule (Hyménoptère de 1 à 2 mm), sa corpulence, ses antennes nettement écartées et une réduction de la nervation. Cette espèce possède des nervures marginales de ses ailes antérieures épaissies. Elle se différencie de *Pachyneuron* et de *Asaphes* par l'absence de pétiole.

*** Biologie**

Il est à noter que les parasitoïdes exercent une action graduelle sur les insectes hôtes. Puisque les parasitoïdes ne tuent les pucerons que lorsqu'ils arrivent à la fin de leur développement larvaire, les pucerons parasités continuent à consommer de la nourriture sur la plante, produisent du miellat et continuent à transmettre des virus. Les parasitoïdes diminuent effectivement la population de pucerons mais ils ne peuvent pas empêcher la migration (Stary, 1988 ; Hågvar & Hofsvang, 1991).

Les parasitoïdes sont toujours présents pendant les observations (Tableau 3). Nous avons remarqué que la présence de *Syrphophagus* est plus régulière par rapport aux autres parasitoïdes. *D. rapae* s'attaque aux *B. brassicae* et *L. pseudobrassicae*, par contre *Aphidius* infeste *M. persicae*.

- Aphidiidae :

Lors de l'oviposition, la femelle replie son abdomen sous le thorax et le projette vers l'avant afin de piquer le puceron avec son ovipositeur. Elle pond généralement un seul œuf par puceron. En cas de multi ou super- parasitisme, un seul parasitoïde pourra finir son développement. On distingue généralement quatre stades larvaires. Durant les trois premiers stades, la larve se nourrit par l'intermédiaire des tétatocytes (Cellules issues de la membrane

péritrophique de l'œuf parasite, et sécrétant des molécules à rôle trophique, hormonal et empêchant la réaction immunitaire de l'hôte). Seule la larve de quatrième stade possède une mandibule qui lui permet de se nourrir directement des tissus et des organes de l'hôte. Le puceron hôte meurt avant la mue nymphale de la larve parasitoïde et seule la cuticule du puceron persiste. La larve tisse un cocon à l'intérieur ou sous la cuticule du puceron mort et elle passe au stade nymphal appelé momie (Figure 31). L'adulte émerge de la momie en découpant un trou circulaire. La durée du développement dépend principalement de la température et est de l'ordre de deux semaines entre 20 et 25°C. La maturité sexuelle apparaît rapidement juste après l'émergence. L'accouplement peut avoir lieu dans les minutes qui suivent l'émergence. Les femelles sont proovogéniques : elles naissent avec une réserve d'œufs mûrs. Le mode de reproduction est principalement haplo-diploïde comme chez de nombreux Hyménoptères. Les œufs non fécondés donnent naissance à des mâles (reproduction par parthénogenèse arrhénotoque) et les œufs fécondés diploïdes donnent naissance à des femelles. La sex-ratio des femelles fécondées peut être influencée par différents facteurs internes et externes tels que le stade et ou la taille de l'hôte (Sary, 1988 ; Hågvar & Hofsvang, 1991).

La longévité des adultes dépend de différents facteurs tels que la température, la nourriture et la présence d'hôtes. Les adultes d'Aphidiidae se nourrissent essentiellement de miellat et de nectar.

Figure 31 : Momies d'*Aphidius sp.* sur *Sitobion avenae*

(Photo de J.M. Rabasse, INRA d'Antibes)

- Encyrtidae

Ce sont des endoparasites des Homoptères immatures ou peu communément des adultes. L'œuf est déposé à l'intérieur de l'hôte. Lors de l'infestation de l'hôte immature, la queue de l'œuf déposé fait une saillie à travers le corps. Après l'éclosion, la larve utilise l'oxygène atmosphérique. Par contre lors de l'infestation du stade adulte, le parasitoïde absorbe directement l'oxygène à travers la cuticule. Le premier stade larvaire possède des

formes variables, sphériques ou allongées. Le dernier stade larvaire est souvent enfermé dans un fourreau qui s'est anastomosé avec le système trachéen de l'insecte (Hill, 1994).

5.4.3. Hyperparasites

*** Morphologie**

Ce sont des Hyménoptères de petite taille (1 à 2 mm) et robustes. Ils ont généralement une couleur métallique et possèdent 8 à 13 segments antennaires. La tête varie de subrectangulaire à ovale et la position des antennes varie (Hill, 1994).

- *Asaphes* se caractérise par son abdomen en fuseau et par les nervures marginales de ses ailes antérieures non épaissies (Powell, 1982). C'est un hyperparasite de puceron, parasitant les larves des parasitoïdes Aphidiidae et Aphelinidae.

- *Pachyneuron* se caractérise par son abdomen plus ou moins aplati dorsalement, voire aplati en disque. Cette espèce possède des nervures marginales de ses ailes antérieures épaissies.

*** Biologie**

Les hyperparasites, *Asaphes* et *Pachyneuron* sont des ectoparasites. Les femelles déposent leur œuf à la surface de la larve du parasite primaire, seulement après la momification des pucerons. Elles injectent du venin car la paralysie du parasite primaire apparaît immédiatement après l'attaque. Les larves d'hyperparasites se nourrissent extérieurement de l'hôte primaire et à l'intérieur de la momie. Le développement des larves primaires s'arrête et il n'y a pas d'adultes parasites primaires émergents. La durée du développement entre le dépôt d'œufs et l'émergence des adultes hyperparasites dure approximativement 21 jours. En plus de l'action parasitaire de l'hyperparasite en particulier chez *Asaphes*, la femelle se nourrit aussi de l'hôte mais seulement lors de la première oviposition (Sullivan, 1988).

Les hyperparasites sont présents pendant les observations (Tableau 3).

5.5. Conclusion

La taille de la population de pucerons sur chou est moins importante que la population d'*Aphis gossypii* Glover sur coton à Madagascar (Kuklinski, 2000). La culture de *B.*

pekinensis possède des insectes auxiliaires diversifiés qu'il est nécessaire de préserver. On trouve la plupart des prédateurs des pucerons du coton lors des études faites par Kuklinski (2000) sur les témoins non traités. Les Hyménoptères parasitoïdes prospèrent bien dans la culture de crucifères, alors qu'on n'a pas trouvé de parasitoïdes sur la culture de coton dans le Sud-Ouest de Madagascar (Kuklinski & Borgemeister, 2001).

Dans notre cas, la part du parasitisme est globalement faible ; or, au Kenya, le parasitoïde *D. rapae* (M'cintosh) attaquant *Brevicoryne brassicae* ~~de-sur~~ choux (*Brassica campestris* et *B. napus*), joue un rôle considérable dans le programme de lutte contre ce ravageur (Bahana & Karuhize, 1986). La différence avec notre site d'étude peut s'expliquer par le fait suivant : Madagascar se caractérise par la diversification des espèces prédateurs et parasites de pucerons, alors qu'au Kenya, *D. rapae* est l'unique espèce jouant le rôle d'auxiliaire de pucerons. Dans une situation où les espèces prédatrices, parasitoïdes et hyperparasites sont présentes, la multiplication des parasitoïdes est freinée par la prédation des momies ou leur infestation par les hyperparasites. Cette hypothèse serait à vérifier sur d'autres sites malgaches.

Malgré la taille et le nombre restreints des parcelles étudiées, notre étude montre que la culture de *B. pekinensis* ~~présente donc~~ caractérise par une diversité faunistique d'insectes auxiliaires. La connaissance de la structure et du fonctionnement des biocénoses reste la base scientifique indispensable à la compréhension du fonctionnement du milieu maraîcher en particulier. Le traitement insecticide contre les chenilles défoliatrices pourrait avoir des effets sur la faune auxiliaire des pucerons.

6. Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons, en parcelles de choux, *B. pekinensis*

6.1. Matériel et méthode

6.1.1. Insecticides testés

Nous avons utilisé la deltaméthrine (Décis 25 EC), la lambda cyhalothrine (Karaté 25 EC) qui sont des pyréthriinoïdes de synthèse, et le méthidathion, un organophosphoré (Ultracide 20 EC). Ils agissent essentiellement par contact sur les pucerons et ont une action

au niveau du système nerveux de l'insecte (Cluzeau, [1998](#) & Paternelle, [2000](#) ; Worthing, 1979).

~~La formulation concentrée émulsionnable est utilisée.~~ Nous avons appliqué les doses suivantes : 7,5 g de matière active (m.a)/ ha de deltaméthrine, 6 g de matière active /ha de lambda cyhalothrine et 400 g de matière active/ha de methidathion, doses homologuées à Madagascar sur les cultures maraîchères en plein champ contre les chenilles défoliatrices et les pucerons.

Durant la première année d'essai, les parcelles ont été traitées à la deltaméthrine et au ~~m~~ethidathion, et durant la seconde année, à la deltaméthrine et à la lambda cyhalothrine.

6.1.2. Dispositifs expérimentaux

On utilise les blocs de Fisher à 3 répétitions. Chaque répétition comprend 3 traitements constitués de deltaméthrine, de methidathion et le témoin non traité lors de la première année, ou de deltaméthrine, de lambda cyhalothrine et le témoin non traité lors de la deuxième année. Les parcelles élémentaires utilisées (10 m²) sont espacées de 50 cm la première année et 70 cm la seconde (Figure 32). La superficie totale des trois blocs correspond à la taille d'exploitation moyenne d'un paysan dans la région.

Le semis est réalisé le 23 novembre 1999 et le 03 février 2001. Les semences de *B. pkinensis* utilisées proviennent d'un Centre de multiplication, Laniera (Antananarivo).

Tous les blocs subissent les mêmes entretiens (démariage, sarclage, fumure d'entretien). Nous avons épandu l'urée (150 kg / ha : quantité recommandée après une étude pédologique du sol en général à Madagascar) un mois après le semis.

Figure 32 : Un bloc présentant les parcelles élémentaires pour évaluer l'effet d'insecticide

On déclenche le traitement deux semaines après le semis, date à partir de laquelle les plantes semblent avoir supporté l'attaque des chenilles défoliatrices. On traite les parcelles élémentaires recevant le même produit l'une après l'autre, tout en tenant compte de la direction du vent. Le pulvérisateur est calibré avant de réaliser le traitement.

6.1.3. Suivi des populations et analyse statistique

On effectue des évaluations : juste avant le traitement (0 jour) puis 2, 7, 14, 21 et 28 jours après le traitement. Nous ne pouvons pas continuer les observations au-delà de 28 jours après traitement, du fait de la pression d'attaque faite par les chenilles défoliatrices et de la pullulation des pucerons entraînant le dépérissement des plants sur les témoins.

Nous avons appliqué le comptage direct pour évaluer la population de pucerons, et nous avons dénombré les pucerons momifiés pour déterminer l'action des parasitoïdes. Le comptage est réalisé sur 25 % des plants (soit 10- 13 pieds) pris au hasard dans chaque parcelle élémentaire. Les comptages successifs sont faits sur les mêmes pieds. Le taux de parasitisme est calculé à partir de la formule Reboulet (1986) (Cf § 1^{ère} partie- Chap. 3 : 5.3.1).

Environ 5 % des momies trouvées au champ sont prélevées en vue d'une identification à l'INRA d'Antibes.

La taille des populations de pucerons et le taux de parasitisme ont été soumis à une ANOVA à deux facteurs (traitement X bloc) afin de comparer les trois types de traitements.

6.2. Résultats

6.2.1. Evolution des populations de pucerons et de parasitoïdes

****Première année d'étude***

Dans les trois blocs, les moyennes du nombre de pucerons observés par plant lors du traitement sont de : $0,67 \pm 0,35$ pour les témoins ; $1,04 \pm 0,08$ pour les parcelles traitées à la deltaméthrine et $0,80 \pm 0,20$ pour celles du méthidathion. Au stade plantule de *B. pekinensis*, la taille de la colonie de pucerons reste faible.

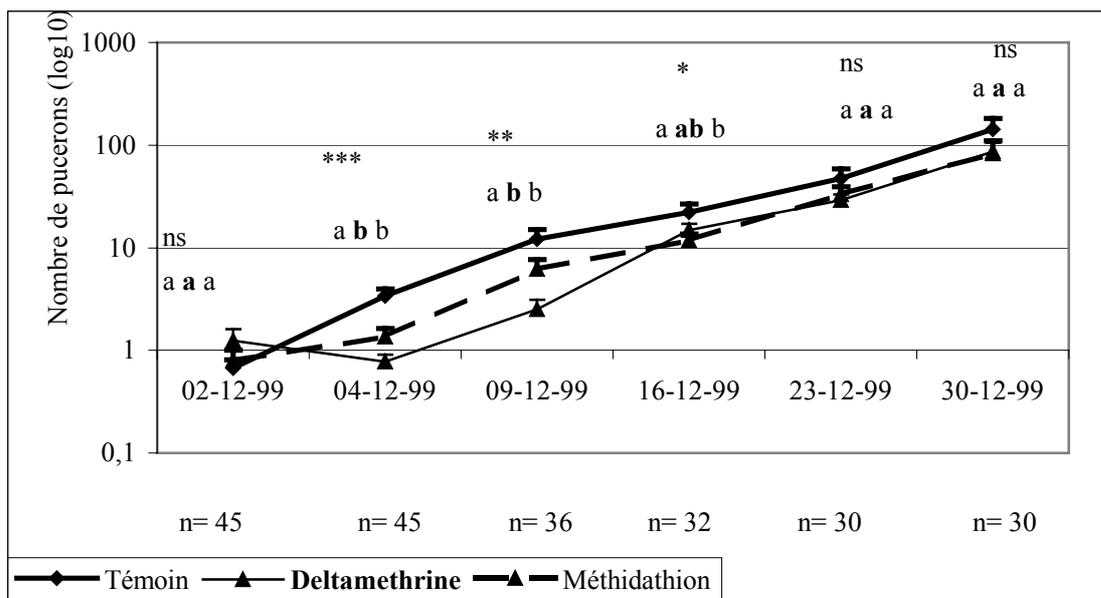


Figure 33 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons par pied de choux en 1999
 (Analyse de variance : *** : $p < 0,1 \%$; ** : $p < 1 \%$; * : $p < 5 \%$; ns : $p > 5 \%$; Barre d'erreur-type ; pour une date donnée les pucerons indexés avec des lettres différentes sont significativement différents entre types de traitement ; n= nombre de pieds de choux)

Deux jours puis une semaine après le traitement, le nombre de pucerons sur les parcelles témoins est très significativement supérieur au nombre de pucerons sur les parcelles traitées. Puis deux semaines après le traitement, le nombre de pucerons dans les parcelles traitées à la deltaméthrine est significativement inférieur à celui des témoins au seuil de 5 %. A partir de deux semaines après le traitement, la population de pucerons ne diffère pas significativement entre les parcelles (Figure 33 ; Tableau 4).

Aucune momie n'a été trouvée avant le traitement. Les premières sont observées lors du comptage 2 jours après le traitement sur les parcelles témoins et traitées au méthidathion. Le nombre de momies augmente avec le nombre de pucerons, mais reste faible et ne diffère significativement entre les parcelles que deux puis quatre semaines après traitement. Sur les parcelles traitées à la deltaméthrine, les pucerons momifiés n'apparaissent que de deux semaines après le traitement (Figure 34 ; Tableau 4).

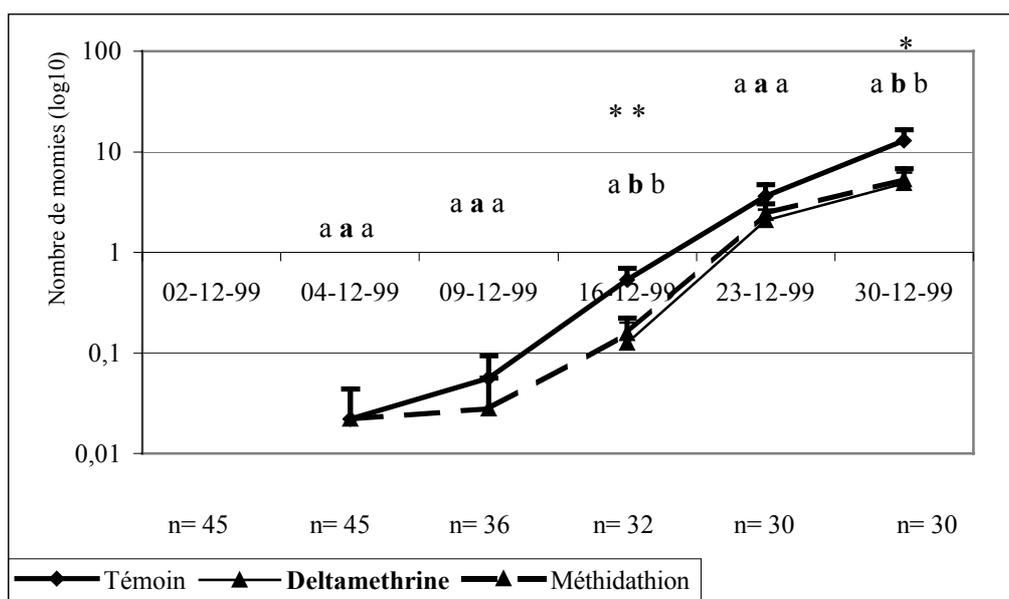


Figure 34 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons parasités par des Hyménoptères (momies), par pied de chou en 1999 (Analyse de variance : ** : $p < 1\%$; * : $p < 5\%$; ns : $p > 5\%$; Barre d'erreur-type ; pour une date donnée, les nombres de momies indexés avec des lettres différentes sont significativement différents entre types de traitement ; n= nombre de pieds de choux)

	Pucerons				Parasitoïdes			
	Effet bloc		Effet traitement		Effet bloc		Effet traitement	
	F	p	F	p	F	p	F	p
0 j	0,05	0,95	1,29	0,28	1,00	0,37	1,00	0,37
2 j	0,85	0,43	13,44	<0,0001	0,50	0,61	0,50	0,61
7 j	3,01	0,054	7,36	0,0010	1,02	0,36	1,02	0,36
14 j	1,95	0,15	3,13	0,048	1,35	0,27	4,68	0,012
21 j	1,12	0,33	1,49	0,23	1,63	0,20	1,05	0,35
28 j	2,58	0,08	1,37	0,26	1,42	0,25	3,56	0,033

Tableau 4 : Résultats d'analyse de variance sur les données du comptage des pucerons et des momies en 1999 (F : ratio de Fisher ; p : probabilité associée à la valeur de F.)

Ratio de Fisher mesure la contribution relative du facteur étudié à la variabilité des données.

Si $p < 0,05$, on considère que le facteur a un effet significatif sur les données.

*** Deuxième année d'études**

La population de pucerons diminue très rapidement après le traitement insecticide et elle a une croissance exponentielle 7 jours après. Entre 7 et 21 jours, la pente est deux fois plus forte que celle de la courbe d'évolution des témoins. Cette plus forte croissance serait due à l'absence de la faune auxiliaire dans les parcelles traitées (Figure 35 ; Tableau 5). Nous n'avons pas présenté les résultats du bloc 3 (qui vont dans le même sens que ceux des deux autres blocs) car la taille des colonies de pucerons était 10 fois moins importante que dans les deux autres blocs.

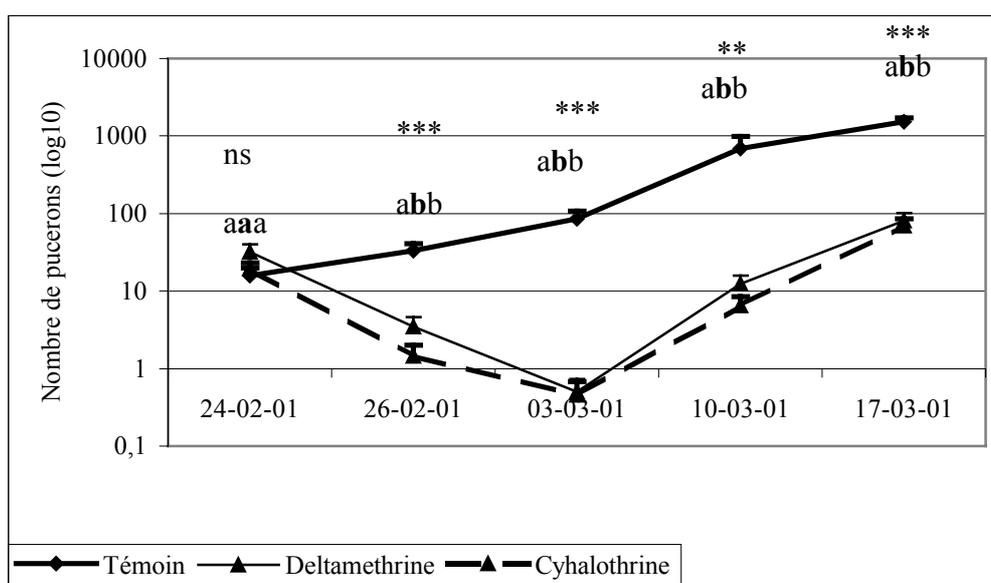


Figure 35 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons par pied de chou en 2001 (Analyse de variance due au traitement : *** : $p < 0,1 \%$; ** : $p < 1\%$; NS : $p > 0,5 \%$; Barre d'erreur-type ; pour une date donnée, les nombres de pucerons indexés avec des lettres différentes sont significativement différents entre type de traitement ; nombre de pied de chou : **Décis**-deltaméthrine : 24 ; **Karaté**-cyhalothrine : 24 ; Témoins : 26)

Aucune momie n'a été trouvée avant le traitement. Les premières sont observées une semaine après traitement sur les parcelles témoins. Les momies n'apparaissent que tardivement sur les parcelles traitées, soit trois semaines après traitement, sur les parcelles traitées aux pyrethrinoïdes, dans les deux groupes d'essai (Figure 36). Trois semaines après le traitement, on trouve plus de parasitoïdes dans les parcelles témoins que sur les parcelles traitées dans les deux blocs (Tableau 5).

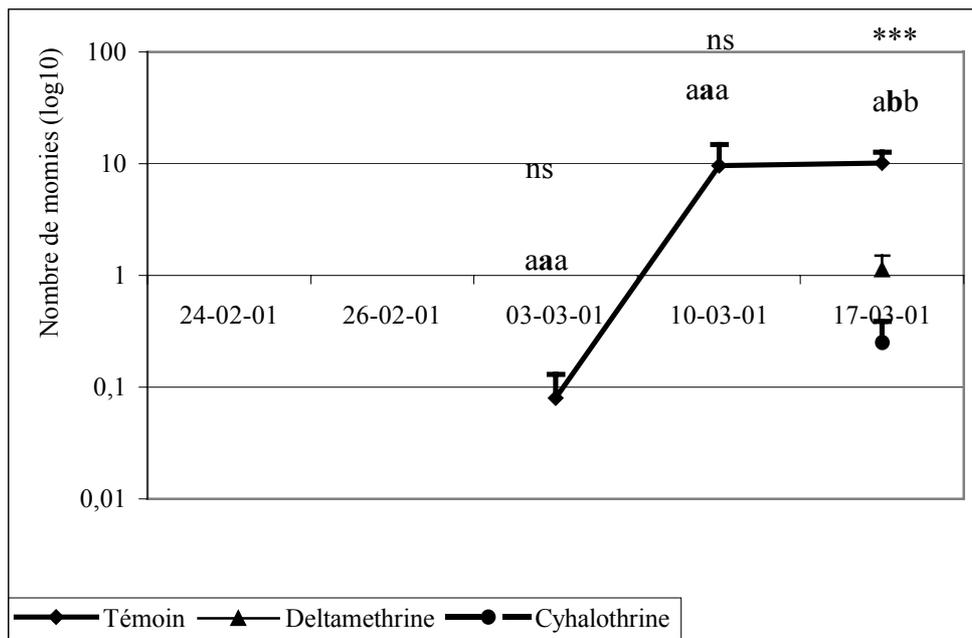


Figure 36 : Effets d'insecticides sur le nombre de pucerons parasités par des Hyménoptères par pied de chou en 2001 (Analyse de variance : *** : $p < 1\%$; NS : $p > 0,5\%$; Barre d'erreur-type ; pour une date donnée, les nombres de momies indexés avec des lettres différentes sont significativement différents entre type de traitement; nombre de pieds de chou : $n_{\text{deltaméthrine}} : 24$; $n_{\text{cyhalothrine}} : 24$; $n_{\text{Témoin}} : 26$ Décis : 24 ; Karaté : 24 ; Témoin : 26)

	Pucerons				Parasitoïdes			
	Effet bloc		Effet traitement		Effet bloc		Effet traitement	
	F	p	F	p	F	p	F	p
0 j	3,65	0,06	2,26	0,11	-	-	-	-
2 j	0,00	0,95	12,09	<0,0001	-	-	-	-
7 j	0,30	0,58	12,88	<0,0001	0,01	0,91	1,90	0,16

14 j	1,80	0,18	4,66	0,01	1,48	0,23	3,02	0,0550
21 j	0,02	0,89	58,68	<0,0001	0,66	0,42	11,84	<0,0001

Tableau 5 : Résultats d'analyse statistique des données du comptage de pucerons et de momies en 2001. (F : ratio de Fisher ; p : probabilité associée à la valeur de F)

Ratio de Fisher mesure la contribution relative du facteur étudié à la variabilité des données.

Si $p < 0,05$, on considère que le facteur a un effet significatif sur les données.

6.2.2. Evolution du taux de parasitisme

Les taux de parasitisme des témoins sont significativement supérieurs à ceux des parcelles traitées dans les cas suivants : 4 semaines après traitement lors de l'expérimentation en 1999 et deux semaines après le traitement en 2001 (Figures 37 et 38 ; Tableau 6). Sur les mêmes parcelles d'expérimentation, on remarque une plus forte action des parasitoïdes en 1999 qu'en 2001, avec une moyenne maximale de 30 % de parasitisme en parcelle témoin contre 7- 8 % en 2001.

* Première année d'étude

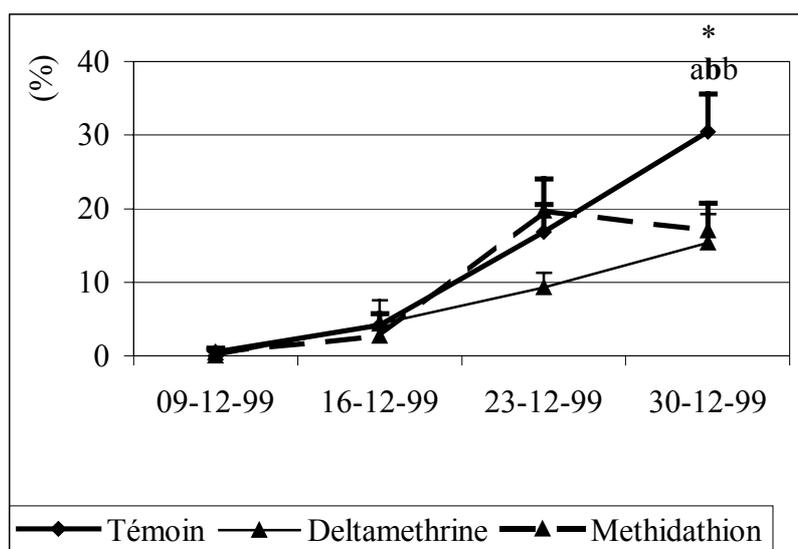


Figure 37 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons par des Hyménoptères par pied de chou en 1999 (Barre d'erreur type ; * : $p < 0,05$)

* Deuxième année d'études

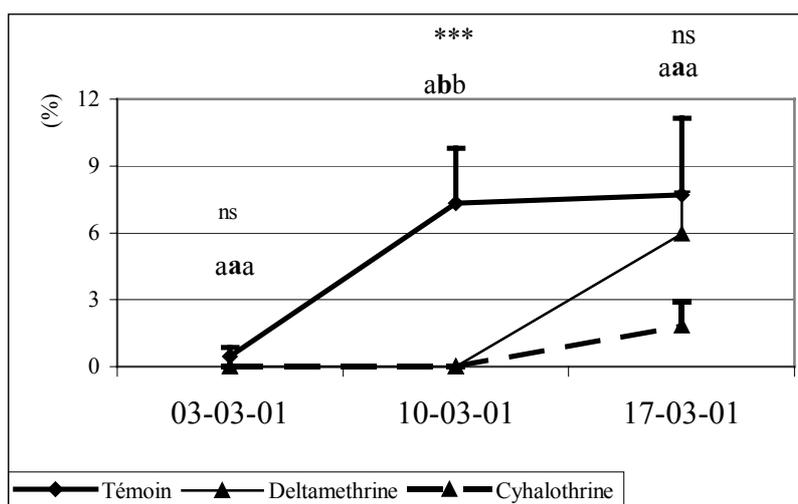


Figure 38 : Effets d'insecticides sur le taux de parasitisme des pucerons par des Hyménoptères par pied de choux en 2001 (Barre d'erreur-type ; *** : $p < 0,01$ % ; NS : $p > 5$ % ; pour une date donnée, les valeurs indexées avec des lettres différentes sont significativement différentes entre types de traitement)

	1999				2001 : blocs 1 et 2			
	Effet bloc		Effet traitement		Effet bloc		Effet traitement	
	F	p	F	p	F	p	F	p
7 j	2,02	0,14	0,52	0,60	0,80	0,37	1,32	0,27
14 j	0,77	0,46	0,15	0,86	0,70	0,41	8,40	0,0005
21 j	1,73	0,18	2,01	0,14	0,58	0,45	1,39	0,26
28 j	1,73	0,18	2,01	0,14	-	-	-	-

Tableau 6 : Résultats d'analyse statistique du taux de parasitisme (F : ratio de Fisher ; p : probabilité associée à la valeur de F)

Ratio de Fisher mesure la contribution relative du facteur étudié à la variabilité des données.

Si $p < 0,05$, on considère que le facteur a un effet significatif sur les données.

6.3. Discussion

Les deux années d'expérimentations montrent que les insecticides testés ont une action importante dans la lutte contre la pullulation des pucerons. Après le traitement, la taille des colonies de pucerons se maintient à un niveau significativement plus faible que celui des témoins. Cependant, nous avons observé une remontée, avec une pente assez forte, de la population à partir de 7 jours après traitement, ce qui nous a conduit à dire que la rémanence du produit envers les pucerons dure une semaine. Une étude sur terrain selon les techniques habituelles (Bos, 1981) lors du traitement de colza à la deltaméthrine (dose 8,25 g/ha de

matière active) a montré que deux jours après traitement, il y a 0,30 mg de matière active par kg de feuille et au bout de 8 jours, il ne reste que 0,05 mg de matière active par kg de feuille. Les résultats d'une étude réalisée dans le laboratoire à l'INRA de Bures-sur-Yvette en collaboration avec l'INRA de Versailles, Unité de Phytopharmacie, confirment aussi cette rémanence d'une semaine sur les feuilles de colza (Desneux, communication personnelle).

Généralement, le traitement réduit significativement la population de parasitoïdes (14 jours et 28 jours après traitement pour l'année 1999 et 21 jours après traitement pour les blocs 1 et 2 de l'année 2001). ~~On ne pourra pas voir cet effet pour le bloc 3 de l'année 2001 du fait du petit nombre de pucerons.~~ Les traitements avec la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine entraînent un retard de l'action des parasitoïdes, d'au moins une semaine, par rapport à la parcelle non traitée. Ce délai correspond au temps nécessaire à la manifestation du parasitisme sous la forme de momies. Il est à noter cependant qu'on ne voit pas cet effet avec le methidathion. Quant à l'évolution du taux de parasitisme, les résultats en 1999 et en 2001 sur les blocs 1 et 2 font apparaître un pourcentage élevé de pucerons parasités dans les parcelles témoins par rapport aux parcelles traitées, et ceci respectivement 28 et 14 jours après traitement. Ceci signifie que la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine restent encore actives du fait de l'action des résidus jusqu'à deux semaines après traitement pour les parasitoïdes. Les pucerons et leurs parasitoïdes n'ont pas les mêmes sensibilités vis-à-vis des pyrethrinoides.

Le retard d'apparition des parasitoïdes dans les parcelles traitées peut s'expliquer par les trois types d'action : effet répulsif éventuel de l'insecticide, action du produit sur l'hôte et action du produit sur les parasitoïdes.

Concernant les effets répulsifs des insecticides, le retard de l'action des parasitoïdes peut s'expliquer par l'action répulsive des pyrethrinoides sur la faune utile comme cela a été montré pour l'abeille (Demolis, 1992 ; Mestres & Mestres, 1992), ce qui lui permet d'éviter les zones traitées. De même, l'action d'*Aphidius sp* parasitant *Sitobion avenae* sur céréale en plein champ (UK) et en serre, se décale d'un à trois jours après le traitement à la deltaméthrine (Longley & Jepson, 1996).

La toxicité observée est aussi liée probablement à la formulation de l'insecticide utilisé. Les adjuvants incorporés avec la formulation concentrée émulsionnable se montrent plus toxiques que d'autres formulations à disperser dans l'eau comme les granulés ou les suspensions concentrées (Longley & Stark, 1996)

Concernant l'action du produit liée à l'hôte, Krespi (1990) a aussi montré que la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine diminuent l'attaque des pucerons des céréales et l'infestation par leurs Hyménoptères parasitoïdes. La réduction des parasitoïdes dépend étroitement de la taille de la population hôte dans les parcelles traitées. Il s'agit donc d'un effet indirect des pyréthrinoïdes sur la population d'auxiliaires. Une étude du complexe : pois/*Acyrtosiphon pisum*/*Aphidius ervi*, en laboratoire, nous a montré que le pois infesté de *A. pisum* ne devient attractif pour le parasitoïde *A. ervi* qu'à partir d'une infestation de 40 pucerons pendant au moins 48 à 72 heures (Guerrieri *et al.*, 1999), ce qui pourrait aussi expliquer le retard du parasitisme dans les parcelles traitées.

Enfin, l'action directe de l'insecticide sur l'activité des parasitoïdes est possible dans plusieurs circonstances. Les adultes sont exposés, au produit pulvérisé, aux résidus sur le feuillage ou dans la nourriture contaminée (nectars, pollens, exsudats foliaires ou miellats excrétés par les Homoptères) (Longley & Stark, 1996). Les stades immatures sont protégés pendant le stade momie cependant leurs hôtes peuvent être tués. Delorme (1976) a mis en évidence que les facteurs de toxicité les plus importants sont d'une part l'action sur les pucerons, dont la mort entraîne celle de la larve endoparasite et d'autre part la persistance d'action des résidus présents sur les momies et le feuillage, toxiques pour ~~sur~~ les adultes émergents dans les jours suivant le traitement.

De plus, l'étude au laboratoire du complexe tri-trophique : céréales/*Sitobion avenae*/*Aphidius uzbekistanicus*, montre que les pyr~~é~~ethrinoïdes exercent un effet à court terme sur les parasitoïdes (mortalité des jeunes stades et des adultes à l'émergence, diminution de la durée de vie des adultes traités), et a un effet différé dans le temps en déséquilibrant le sexe-ratio en faveur des mâles (Krespi, 1990).

Toutefois, bien que les taux de parasitisme soient le plus souvent faibles, la comparaison des pentes de croissance des populations de pucerons en 2001, montre que des auxiliaires exercent une pression contre la pullulation des pucerons dans les parcelles témoins. Ce sont donc d'autres ennemis naturels qui limitent les pucerons (Rabasse, 1983). Les pucerons ainsi que l'action des parasitoïdes seraient limités par les mycoses entomophthorales (observations fréquentes de pucerons mycosés de couleur jaune orange) et éventuellement la prédation de pucerons parasités. L'insecticide n'est donc pas le principal facteur qui limite l'action des parasitoïdes de pucerons ; cependant il contribue à défavoriser leur action.

6.4. Conclusion

La culture de choux *B. pekinensis*, est caractérisée par la diversité d'insectes auxiliaires de pucerons malgré l'importance des traitements phytosanitaires réalisés sur les cultures maraîchères. Les différentes espèces de Coccinelles jouent un rôle dans la limitation de la population de pucerons, les Hyménoptères parasitoïdes de pucerons interviennent à un degré moindre.

Cette étude nous a permis de démontrer que les effets d'insecticides sur les parasitoïdes peuvent être immédiats (mortalité des jeunes stades, mortalité des adultes) ou différés (retard d'infestation, diminution du nombre de momies).

Le maintien de l'équilibre biocénotique des cultures maraîchères repose donc sur une meilleure utilisation des différentes méthodes de lutte à la disposition des agriculteurs et sur la prise en compte du rôle de tous les ennemis naturels. En culture de choux, le traitement aphicide ne se justifie pas. Il faut tenir compte de l'action des Hyménoptères parasitoïdes, même si leur action reste variable car ils constituent un maillon important de l'équilibre écologique par leur position dans la chaîne trophique.

Conclusion de la première partie

Nous avons montré que l'agriculture à Madagascar se base encore sur un système de culture traditionnelle. Son évolution n'est possible que par un effort de vulgarisation bien ciblé du fait de la faible capacité des agriculteurs à adopter une nouvelle technique. Les insectes ravageurs ont une importance économique dans le développement de l'agriculture, en particulier le criquet migrateur et les ravageurs du cotonnier. Les pucerons jouent aussi ce rôle du fait qu'ils restent présents dans les différentes cultures et pullulent fréquemment. La lutte antiacridienne et la protection de la culture cotonnière constituent les filières les plus consommatrices de produits phytosanitaires dans le pays.

Les enquêtes que nous avons menées nous ont permis de savoir que la lutte chimique n'est pas le seul moyen qu'utilise actuellement les agriculteurs pour combattre les ennemis des cultures. Les incidences de nombreuses mesures culturales et prophylactiques dans la régulation du niveau de population des ravageurs sont connues par la plupart des agriculteurs. La lutte biologique reste moindre, même si quelques agriculteurs (planteurs de coton) ont déjà une certaine connaissance sur l'existence des auxiliaires des cultures tels que les prédateurs. Nombre d'entre eux ne sont [paspas](#), au courant de la méthode qu'ils peuvent adopter pour favoriser l'action de ces auxiliaires. La plupart des méthodes de lutte pratiquées par les agriculteurs reposent sur le traitement chimique aveugle et rares sont ceux qui maîtrisent la lutte intégrée. Le traitement chimique conditionne donc l'équilibre écologique notamment par son impact sur l'action des insectes auxiliaires.

L'apiculture et l'agrumiculture commencent à prendre leur ampleur dans la région d'Ambositra. Les infrastructures économiques et les facteurs pédo-climatiques de cette région peuvent favoriser le développement de ces deux filières. Or, les agriculteurs ne les considèrent pas comme interdépendantes pour améliorer la productivité. L'analyse de la conduite du rucher et du système de culture des agrumes montre qu'ils sont encore au stade semi-intensif. Les rendements en fruit d'agrumes et en miel restent faibles. Concernant l'apiculture, les nouvelles techniques ne sont jamais à la portée d'un simple agriculteur, qui ne peut pas affronter les difficultés d'approvisionnement en colonies d'abeilles. Concernant l'agrumiculture, la mauvaise maîtrise des attaques des ennemis et l'insuffisance de l'action des pollinisateurs limitent le rendement en fruit. Des problèmes de non-adaptation des produits peuvent se produire dans de nombreux vergers du fait que la majorité des agriculteurs ont souvent du mal à distinguer les différents ennemis. Ils traitent

systématiquement les vergers sans considération des effets sur l'environnement. Les abeilles sont victimes de la négligence. Des agriculteurs constatent que le traitement a entraîné une intoxication des abeilles et au fil des années une diminution du nombre de ruches.

Nous avons montré lors de l'expérimentation que la culture de *B. pekinensis* abrite plusieurs espèces d'insectes auxiliaires de pucerons qui sont favorisées par l'environnement agronomique diversifié de la région d'étude. Les Coccinellidae peuvent limiter la pullulation de pucerons. Cette étude nous a permis de connaître l'importance des parasitoïdes dans la limitation de la population de pucerons. Ils y participent à un degré souvent faible. L'analyse des effets du traitement insecticide sur la culture de *B. pekinensis* montre que la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine entravent l'action des parasitoïdes de pucerons. On observe un retard de la colonisation par les parasitoïdes des parcelles traitées et un niveau d'infestation plus faible par rapport aux parcelles témoins. Le phénomène peut s'expliquer par l'action répulsive du produit, l'action du produit sur l'hôte et l'action du produit sur les parasitoïdes.

Cette étude nous montre que les risques d'intoxication et leurs effets existent envers les abeilles et les parasitoïdes. Il est important d'établir une méthodologie permettant d'évaluer correctement ce danger au laboratoire. Les effets observés peuvent varier en fonction de l'importance des insectes auxiliaires dans la zone, du produit et de la dose utilisés, de la fréquence et de l'opportunité du traitement.

Deuxième partie :

Etude en laboratoire de la toxicité et des effets comportementaux de différents insecticides sur un parasitoïde de pucerons, *Aphidius ervi* Hal., et l'abeille domestique, *Apis mellifera* L.

Introduction

Les insecticides agissent sur l'insecte soit par contact, soit par ingestion soit par inhalation. En conditions naturelles, la pénétration de l'insecticide par contact est possible soit avec le produit frais au cours de l'épandage ou avec les résidus présents sur des organes végétaux aériens traités. La pénétration par contact résiduel s'effectue principalement par les tarsi, qui constituent une voie de pénétration rapide (car au niveau des articulations persiste seulement l'endocuticule qui constitue le point faible de pénétration (Meurillon, 1989 b)), mais aussi par contact entre le corps entier et les parties florales (étamine, nectaires, pétales et pistil). Il y a pénétration de l'insecticide par ingestion lorsque l'insecte consomme des matières nutritives (miellat ou nectar) ou des gouttelettes d'eau contaminées par un traitement insecticide systémique ou pulvérisé.

On évalue la toxicité des insecticides par les effets létaux et sublétaux occasionnés aux organismes étudiés. La directive européenne de 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytosanitaires (91/414/CEE du 15 juillet 1991 amendée par la directive 96/12-CEE : EEC/CEE, 1996) recommande des tests sur les insectes auxiliaires pour chaque homologation. Parmi les auxiliaires concernés figurent les ennemis naturels des ravageurs, et les abeilles.

Il existe depuis cette directive un schéma d'estimation du risque envers les arthropodes auxiliaires établi par l'EPPO (European Plant Protection Organisation) et commun à tous les membres de la Communauté européenne (EPPO, 1994), fondé sur une approche en trois niveaux : essais en laboratoire, essais en conditions semi-naturelles et essais en plein champ. Les méthodes développées pour ces essais sont laissées à l'appréciation de chaque pays.

Pour les abeilles, une standardisation des méthodes d'évaluation des effets causés par des produits phytosanitaires fait l'objet d'études en France, notamment par l'ACTA (Action de Coordination des Techniques Agricoles), et au niveau européen par la Commission Internationale des Relations Plantes-Abeille (ICPBR). En France des méthodes standardisées d'évaluation de risque ont été validées par la Commission des Essais Biologiques (C.E.B. 1996).

Pour les arthropodes non cibles autres que l'abeille, au niveau européen, les documents de référence pour les méthodes d'évaluation de risques sont ceux d'ESCORT 1 (Barrett *et al.*, 1994) et 2 (Candolfi *et al.*, 2000a) (European Standard Characteristics Of non-Target arthropod Regulatory Testing). Ces documents sont le fruit des recherches menées par le "Joint Testing Program" qui est un groupe de travail BART (Beneficial Arthropod Regulatory testing Group), EPPO et OILB (Organisation Internationale pour la Lutte Biologique : groupe de travail "Pesticides and Beneficial Organisms). En France, l'ACTA a mis au point une méthode d'évaluation en vergers des effets de pesticides sur l'abondance des ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) des insectes ravageurs (Reboulet, 1994) et une première méthode avait été validée par la CEB (1981). Au sein de l'ACTA, le groupe de travail "Actions secondaires" a par ailleurs publié un recueil des effets non intentionnels des produits phytosanitaires (ACTA, 1998). Il n'existe pas encore de méthode validée par la CEB pour l'évaluation en laboratoire de la toxicité des pesticides sur insectes parasitoïdes ou prédateurs.

Dans cette seconde partie de la thèse, j'ai réalisé une analyse bibliographique des effets létaux et sublétaux des insecticides sur les abeilles et les insectes parasitoïdes, puis j'ai développé une étude de la toxicité aiguë de différents insecticides neurotoxiques, dont l'objectif principal était de déterminer les DL 50 de ces insecticides pour l'abeille et l'espèce parasitoïde de puceron, *Aphidius ervi* Hal. Chez l'abeille j'ai également analysé l'influence de la méthode d'exposition sur la variabilité des DL 50. Enfin, j'ai recherché les effets des différents insecticides à doses sublétale et létale sur un comportement d'orientation olfactive, en utilisant un même dispositif, l'olfactomètre à quatre voies, pour les abeilles et l'insecte parasitoïde.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique sur les évaluations des effets toxiques sur abeille et parasitoïdes en conditions de laboratoire

1. Méthodes d'étude de la toxicité aiguë et leurs limites

1.1. Abeilles

On définit la toxicité des produits phytosanitaires par deux méthodes : la C.E.B n°95 pour les études de laboratoire ~~et de plein champ~~, et la méthode n°129 pour les essais sous tunnel. Ces dernières années, plusieurs inconvénients sont apparus avec ces méthodes. Par exemple avec la méthode en plein champ, les effets d'insecticides du groupe des pyréthrinoïdes sont difficiles à estimer, car l'estimation est basée sur le relevé de la mortalité aux alentours immédiats de la ruche, ~~or~~ avec les pyréthrinoïdes, l'activité de la ruche diminue alors que pratiquement aucune mortalité n'est observée. Au laboratoire, la dose létale à 50 % (DL50) d'un produit donné varie fréquemment d'un facteur 10, quelquefois d'un facteur 100, voire 1000 (Atkins *et al.*, 1981). Et les essais sous tunnel souffrent de problèmes de reproductibilité. Nous avons choisi d'étudier plus particulièrement la toxicité des insecticides au niveau du laboratoire qui constitue la base du schéma d'évaluation des risques toxicologiques. Les essais de laboratoire reposent sur la détermination des DL50 orale et d'application topique des produits techniques.

Le tableau 7 montre que la toxicité des matières actives varie, en particulier la toxicité par ingestion. On observe souvent un faible ajustement de la courbe doses-réponses lors de la toxicité par ingestion, ce qui suppose que plusieurs facteurs peuvent biaiser les valeurs des DL50 (Nauen *et al.*, 2001). Différentes raisons sont avancées pour expliquer cette variabilité.

La toxicité des matières actives varie suivant le mode d'application (topique, contact tarsal, ingestion collective ou ingestion individuelle), les conditions expérimentales (température, humidité relative), les paramètres expérimentaux (nombre d'abeilles dans chaque lot, nombre de répétitions, concentration du sucre dans le sirop, quantité d'acétone pour diluer la matière active) (Atkins *et al.*, 1981 ; Faucon *et al.*, 1985 ; Decourtye, 2002). Des études ont montré que la toxicité des pyrethrinoïdes varie en fonction de la température (Soderlund & Bloomquist, 1989 ; Gromisz & Gromisz, 1994 ; Narahashi, 1996).

Matière active	Application topique		Ingestion collective	
	24 et 48 heures	Auteurs	24 et 48 heures	Auteurs
Chlorpyriphos éthyle	59 ng/ab	Worthing, 1979, Stevenson, 1968, Finizio, 1998	250 ng/ab	Worthing, 1979 Stevenson, 1968
			0,18 µg/ab	Finizio, 1998
Lambda cyhalothrine	909 ng/ab	Worthing, 1979	38 ng/ab	Worthing, 1979
	0,027 µg/ab	Smart & Stevenson, 1982		
Deltaméthrine	51 ng/ab	Smart & Stevenson, 1982 Stevenson, 1978 Worthing, 1979	79 ng/ab	Worthing, 1979 Stevenson, 1978
	0,067 µg/ab	Atkins & Anderson, 1954	0,60 µg/ab	Bos, 1981
	0,025 à 0,037 µg/ab (32°C ; 50%HR) 0,006 à 0,011 µg/ab (20°C ; 30%HR)	Bos, 1981	4 à 67 ng/ab	Faucon <i>et al.</i> , 1985 Atkins <i>et al.</i> , 1981
Diméthoate	0,16 µg/ab	Gough <i>et al.</i> , 1994 Murray, 1985	0,18 µg/ab	Gough <i>et al.</i> , 1994
	0,12 µg/ab	Stevenson, 1978 Smart & Stevenson, 1982	0,15 µg/ab	Stevenson, 1978
	0,16 µg/ab (***)	Fiedler, 1987	0,08 µg/ab (****) 0,13 µg/ab	Fiedler, 1987 Murray, 1985
Endosulfan	7,1 µg/ab	Stevenson, 1968	6,9 µg/ab	Stevenson, 1968
Imidaclopride	24 ng/ab	Suchail <i>et al.</i> , 2000	5 ng/ab	Suchail <i>et al.</i> , 2000
	49- 102 ng/ab (48h)	Nauen <i>et al.</i> , 2001	41- >81 ng/ab	Nauen <i>et al.</i> , 2001
	14 µg/ab (*)	Suchail <i>et al.</i> , 2000	65 µg/kg ab (*) 80 et 30,6 ng/ab (24 et 48h)	Suchail <i>et al.</i> , 2000 Decourtye, 2002
			35,1 et 25,4 ng/ab (24 et 48h) (♦)	
			24,9 et 25,1 ng/ab (24 et 48h) (****)	
Pyrimicarbe	> 54 µg/ab	Stevenson, 1978	3,2 µg/ab	Stevenson, 1978
	> 50 µg/ab	Smart & Stevenson, 1982		

Tableau 7 : Synthèse bibliographique sur les DL50 chez l'abeille ((*) : *Apis mellifera caucasica* ; () : abeilles âgées de 1 à 2 jours, et test réalisé à 30 °C ; (***) : Contact tarsal ; (****) : Ingestion individuelle ; (♦) : 10 abeilles /cagette)**

La durée de l'absence de reine entraîne un changement de comportement des abeilles. La présence de la reine diminue le niveau de mortalité et l'excitation des abeilles, et augmente la consommation de nourriture. Cet effet sur l'étude de toxicité aiguë est moindre dans le cas d'une exposition chronique au produit (Bendahou *et al.*, 1994).

L'origine des abeilles constitue aussi une source de variabilité. Elle peut s'expliquer par l'âge qui n'est pas standardisé (Nauen *et al.*, 2001), par l'état de santé qui diffère d'une colonie à une autre (Stevenson, 1968), par les espèces testées (Suchail *et al.*, 2000 ; Suchail, 2001).

D'autres auteurs évoquent l'effet de la qualité et de la disponibilité de nourriture dans la ruche avant le prélèvement d'abeilles. Les facteurs alimentaires (qualité et quantité) peuvent faire varier la sensibilité de chaque individu, en particulier lors d'un traitement par ingestion (Free, 1957 ; Gough *et al.*, 1994). Pendant le test, le sirop de saccharose ne remplace pas la nourriture naturelle de l'abeille qui est le miel et le pollen. Cependant, il reste la meilleure nourriture adaptée aux abeilles captives (Bachman & Gordon, 1977). Les abeilles recevant du sirop moins concentré en sucre sont plus sensibles que celles recevant du sirop plus concentré, lorsqu'on donne aux abeilles une même dose d'insecticide. En effet, la toxicité et le passage rapide de pesticide dans l'intestin grêle est inversement lié à la concentration de sirop de sucre donnée aux abeilles (Conner *et al.*, 1978 ; Gough *et al.*, 1994 ; Nauen *et al.*, 2001). Ainsi, Stevenson (1978) a établi les DL50 à partir de taux de mortalité des abeilles ingérant 20 % de sucre contenant 5 % d'acétone pour diluer la matière active et chaque abeille reçoit 20 µl de sirop dans un lot de 10 abeilles par cagette. Ces paramètres sont différents de la méthode C.E.B. n°95 qui recommande d'utiliser 50 % de sucre dans le sirop, 1 à 10 % d'acétone pour diluer les matières actives et chaque abeille reçoit 10 µl/ abeille dans un lot de 20 abeilles.

Concernant le test par ingestion, la compétition entre les abeilles en ingestion collective et les échanges trophiques peuvent entraîner une variation de toxicité du fait qu'on ne contrôle pas la dose reçue par abeille (Stevenson, 1978), par rapport à l'ingestion individuelle.

Dans notre étude, nous avons déterminé les DL50 de quelques insecticides, et, nous avons comparé l'ingestion collective avec l'ingestion individuelle, en se basant sur la méthode C.E.B. n°95, et nous avons analysé l'importance de la trophallaxie dans la distribution de matière active. Cette démarche nous a permis d'apporter quelques précisions sur les problèmes de variabilité constatée.

1.2. Parasitoïdes

Le premier objectif des groupes de travail mentionnés dans l'introduction de cette partie (BART-EPPO-OILB) a été de retenir des principes méthodologiques pour évaluer au laboratoire la toxicité aiguë des pesticides pour les insectes parasitoïdes. Ces principes sont d'exposer les insectes adultes par contact avec des résidus secs de matière active sur verre, en enceinte aérée (Barrett *et al.*, 1994). Ainsi la toxicité de nombreux produits appliqués à la dose au champ a été évaluée sur diverses espèces de parasitoïdes. Par contre, l'évaluation de la toxicité aiguë par détermination de la DL 50 est peu utilisée chez les insectes parasitoïdes. L'établissement des DL 50 est maintenant recommandé par ESCORT (Candolfi *et al.*, 2000a). Le parasitoïde de pucerons des céréales, *Aphidius rhopalosiphi*, s'est avéré particulièrement sensible, et plus fiable pour l'obtention de données reproductibles que d'autres *Aphidius* (Mead-Briggs *et al.*, 2000). Cette espèce est donc actuellement retenue comme espèce de référence pour l'ensemble des espèces parasitoïdes, sur laquelle ESCORT recommande d'évaluer la toxicité, dans la procédure d'évaluation (Candolfi *et al.*, 2000a).

Concernant les études sur les effets létaux, **b**Bromophos, cypermeathrine, diazinon, diméethoate, meévinphos, phosphamidon et triazophos sont toxiques à tous les stades de développement d'*Aphidius*. Le chlorfenvinphos et le chlorpyriphos **éthyl** sont modérément toxiques pendant le développement larvaire du parasitoïde mais sont toxiques pour les adultes (Hassan *et al.*, 1988).

Pour les parasitoïdes, il n'y a pas encore une méthode standardisée pour la détermination de la toxicité aiguë. Les chercheurs ont fait des tests d'évaluation de toxicité en laboratoire, au stade adulte et momie, sachant que lors d'un traitement chimique au champ, ces stades courent le risque d'exposition à des pesticides. Ainsi le mode d'application d'insecticides en laboratoire varie en fonction du stade de développement auquel sont exposés les parasitoïdes. Au stade momie, on peut appliquer les pesticides soit par dépôt d'une goutte de solution contaminée sur le dos de momies (Stevenson *et al.*, 1984), soit par pulvérisation (Borgemeister *et al.*, 1993). Au stade adulte, on peut imprégner la surface d'un substrat avec des résidus de pesticide (Desneux *et al.*, 2000 ; Delpuech *et al.*, 1998 a ; b). Le substrat peut être un substrat inerte (tube en verre), ou vivant (feuilles) (Deleu & Mahaut, 1998). Bien que les insectes parasitoïdes adultes se nourrissent aux dépens de sources potentiellement contaminées par les pesticides : nectars et miellats, les tests d'intoxication par ingestion s'avèrent rares (Stapel *et al.*, 2000), contrairement **à** l'abeille. Car il est généralement admis

que le principal risque d'exposition des parasitoïdes aux insecticides se situe chez les adultes lorsqu'ils parcourent le feuillage traité, à la recherche d'insectes hôtes.

Nous avons donc utilisé l'exposition par contact tarsal avec des résidus secs, le mode d'exposition le plus fréquemment utilisé par des chercheurs pour tester la toxicité aiguë d'insecticides sur les insectes parasitoïdes.

Pour notre étude, nous avons choisi le parasitoïde de pucerons *A. ervi*, de la famille des Aphidiidae (Hyménoptères) plutôt qu'*Aphidius ropalosiphi*, pour les raisons suivantes. *A. ervi* est une espèce proche d'*A. ropalosiphi* et a l'avantage d'être commercialisé en France comme agent de lutte biologique pour contrôler les pucerons dans les cultures sous-serres. Son intérêt comme auxiliaire des cultures est aussi dû au fait que c'est une espèce très répandue en Europe, sur de nombreuses espèces de pucerons. D'après Sary (1966), *A. ervi* parasite différentes espèces de pucerons : *Acyrtosiphon pisum*, et autres *Acyrtosiphon spp.*, *Aulacorthum solani*, *Brachycaudus spp.*, *Macrosiphum euphorbiae* et autres *Macrosiphum spp.*, *Microlophium evansi*, *M. persicae*, *Sitobion avenae* et autres *Sitobion spp.* Les larves du parasite se développent comme un endoparasite solitaire et consomment l'hémolymphe, puis au dernier stade, les organes et les tissus du puceron hôte. Le dernier stade larvaire tue donc le puceron. Le stade nymphal s'effectue à l'intérieur de l'hôte dans un cocon tissé contre la paroi cuticulaire du puceron, ce qui entraîne la "momification" du puceron, caractérisée par une forme sphérique, une couleur cuivrée et un durcissement (Powell, 1982 ; Sary, 1988).

Notre étude va contribuer à apporter des données sur la sensibilité des Aphidiidae aux insecticides, données encore peu nombreuses.

2. Méthodes d'étude d'effets comportementaux

2.1. Abeilles

Les travaux publiés entre 1949 et 1999 sur les effets écotoxicologiques des pesticides chez l'abeille comptent plus de 300 références pour l'abeille domestique sur 500 pour l'ensemble des Apoïdae (Devilleers & Doré, 2000). Près de 70 % des références considèrent des effets létaux alors que seulement 30 % prennent en compte des effets sublétaux. Les effets sublétaux sont des modifications du fonctionnement de l'insecte. Les effets sublétaux sont classés en trois groupes : effets physiologiques, effets biochimiques, effets comportementaux. Les insecticides peuvent affecter la longévité des butineuses (Mac Kenzie & Winston, 1989)

ou le développement des larves (Sto~~r~~ner *et al.*, 1983~~2~~; Davis *et al.*, 1988) ou perturber le métabolisme glucidique et lipidique des ouvrières (Bendahou *et al.*, 1994).

Le tableau 8 montre quelques effets comportementaux manifestés par des abeilles survivant à une exposition insecticide. Les pesticides testés sont des neurotoxiques. Ils agissent sur des processus clés utilisés par les ouvrières lors de la recherche de nourriture : la communication de la direction et de la distance de la source de nourriture par les danses, la navigation par rapport à la lumière polarisée, l'horloge interne de l'insecte, et la capacité à mémoriser les informations. Ce sont des facteurs clés pour la survie des abeilles (Gould, 1975).

D'une part, les abeilles ont la capacité de mémoriser des informations relatives à la source alimentaire, comme l'indication de son emplacement, sa disponibilité dans le temps ou l'accessibilité de la source alimentaire (Koltermann, 1974 ; Menzel, 1985). Au cours du butinage, les pionnières se repèrent grâce à la position du soleil (Von Frisch, 1967) et elles apprennent la direction de son emplacement (Lindauer, 1970). Les abeilles recrutées se dirigent à partir des indications fournies par les danses des pionnières (Von Frisch, 1967). Cependant, l'orientation des abeilles exposées à la deltaméthrine peut être perturbée (Vandame *et al.*, 1994) et celles exposées au parathion ont des repères déviés (Stephen & Schriker, 1970). Les butineuses dressées à butiner sur une source de nourriture artificielle indiquent qu'après le traitement insecticide, elles cherchent la source de nourriture à une distance plus courte car les informations acquises sont erronées (Schricker, 1974 a). Et les abeilles traitées avec du parathion visitent trop tôt la source de nourriture par rapport à l'heure du dressage (Schricker, 1974 b).

D'autre part, le comportement de butinage est fondé sur la reconnaissance et la sélection des ressources florales par apprentissage à l'odeur de la plante. Ces performances d'apprentissage et de mémorisation permettent aux abeilles de s'adapter aux variations du signal appris initialement (Pham-Delègue *et al.*, 1992 ; Masson *et al.*, 1993). Or une dose sublétale de perméthrine (Mamood & Waller, 1990), ou l'administration subchronique d'imidaclopride et d'endosulfan (Decourtye *et al.*, 2000) ou les applications de doses au champ d'endosulfan et de cyfluthrine (Abramson *et al.*, 2000) diminuent la capacité d'apprentissage olfactif. Mais, la dose recommandée au champ de deltaméthrine ne perturbe pas la capacité d'apprentissage d'*A. mellifera* (Abramson *et al.*, 2000).

	actives			
Effets sur la capacité d'orientation				
Changement de repère	Deltaméthrine	2,5 ng/ab	Vandame <i>et al.</i> , 1994	
Les abeilles recrutées ont des informations erronées lors de l'interprétation de la danse des abeilles traitées	Parathion	0,015 µg/ab	Stephen & Schriker, 1970	
Pas de changement de comportement de butinage évident		0,03 µg/ab	Schricker & Stephen, 1970	
Effet sur la mémoire du temps entraînant un avancement du temps de visites de la source de nourriture		Très faible (inf. à 0,03 gammas)		Schricker, 1974 b
Fausse interprétation des informations acquises lors la danse frétilante				Schricker, 1974 a
Rétablissement de la danse après quelques heures				
Diminution de la durée de récolte de nourriture, augmentation du temps de toilettage, de la durée de la danse frétilante et des rotations	Permethrine	0,009 µg/ab	Cox & Wilson, 1984	
Perte de la capacité de vol et de la plupart des activités, comme la cessation de collecte de pollen.	Orthene® : acephate Sevin® : carbaryl		Johansen, 1984	
Pas d'effet sur les abeilles	Dimilin® : diflubenzuron			
Effets sur la capacité d'apprentissage				
- Réduction de la capacité d'apprentissage associatif, mais induction d'une sensibilisation à l'odeur. - Pas d'effets sur la capacité d'apprentissage si conditionnement discriminatif	Dicofol	10µl/ 16 ab	Stone <i>et al.</i> , 1997	
Difficulté dans la perception et/ou dans la réponse à l'odeur de thym si exposition avant le conditionnement	Permethrine	0,015 mg/20 ab	Mamood & Waller, 1990	
Effets sur la capacité à mémoriser par association mais pas d'effets sur la capacité à utiliser la mémoire olfactive, si exposition entre le conditionnement et le test				
Rétablissement de la capacité d'apprentissage 4 jours après traitement				
Inhibition de l'acquisition, et extinction très accélérée	Endosulfan		Abramson <i>et al.</i> , 2000	
Faible réduction de l'acquisition, mais extinction accélérée	Décis® : Deltamethrine			
Diminution des performances d'apprentissage olfactif, diminution de la sensibilité antennaire	Endosulfan	0,13 ; 0,25 ; 1,30 ng/ab	Decourtye <i>et al.</i> , 2000	
Diminution de la discrimination olfactive au niveau de sources de butinage	Imidaclopride	0,05 ; 0,1 ; 0,50 ng/ab		
Effets sur les réponses au conditionnement olfactif (classement d'effets par ordre croissant : fluvalinate : peu d'effet par rapport à flucythrinate)	Fluvalinate> Cypermethrine, Permethrine, fenvaterate> Cyfluthrine> flucythrinate	CL50	Taylor <i>et al.</i> , 1987	

Tableau 8 : Synthèse des études faites sur les effets comportementaux d'insecticides chez l'abeille

Ces études d'effets sublétaux sont réalisées soit en conditions de laboratoire (Decourtye *et al.*, 2000), soit en conditions semi-naturelles (Vandame *et al.*, 1994) soit au champ (Johansen, 1984).

L'ensemble des études présentées dans le tableau 8 montrent des effets variés sur de nombreux comportements. Il apparaît donc nécessaire d'établir des méthodes d'évaluation d'effets comportementaux. La mesure automatique de la fréquence des entrées et des sorties de la ruche par des compteurs d'activité est en cours de perfectionnement, les méthodes basées sur l'observation du comportement d'orientation vers la ruche et de la communication sociale par les danses, ou sur l'extension conditionnée du proboscis font actuellement l'objet d'études pour en faire éventuellement des méthodes standardisées pour évaluer des effets sublétaux de pesticides (Pham-Delegue *et al.*, 2002).

2.2. Parasitoïdes

Chez les insectes parasitoïdes, les effets sublétaux les plus étudiés sont les effets sur la fécondité (Krespi, 1990) et la longévité des femelles adultes et sur le taux de parasitisme qu'elles provoquent dans la population d'insectes hôtes (Elzen, 1989). Ces effets sont souvent pris en compte pour évaluer la toxicité des insecticides (Delorme, 1976). La recherche d'effets sur le comportement a fait l'objet d'études récentes (Tableau 9). Les insecticides testés sont des neurotoxiques.

Ces études montrent que les insecticides peuvent affecter les différents comportements aboutissant à la reproduction du parasitoïde. Des effets apparaissent dans les comportements mis en jeu dans l'accouplement et les comportements mis en jeu dans l'infestation de l'hôte à savoir la recherche de l'hôte et le comportement de ponte. Des observations de séquences de comportements permettraient de déterminer quels composants spécifiques du succès parasitaire sont affectés par les insecticides (Haynes, 1988).

L'absence de l'accouplement du fait de la perturbation de l'émission et de la reconnaissance de la phéromone sexuelle diminue l'efficacité des parasitoïdes (Alix *et al.*, 2001). Le chlorpyrifos éthyle perturbe la communication phéromonale chez des *Trichogrammes* mâles et femelles exposés à une DL0,1 (Delpuech *et al.*, 1998 a) et à une DL20 (Delpuech *et al.*, 1998 b), avec des effets spécifiques, voir inversés selon la dose.

Dans la recherche de l'hôte, les femelles parasitoïdes sont confrontées à différentes informations. Les repères physiques (Mackauer *et al.*, 1996 ; Battaglia *et al.*, 1995) et chimiques jouent un rôle important dans le processus de reconnaissance de l'hôte. Plusieurs recherches ont montré l'importance des substances chimiques dans les différentes étapes de recherche des hôtes par les insectes parasitoïdes (Vet *et al.*, 1983). Les informations originaires de la plante hôte sont plus facilement perçues que celles produites par l'hôte lui-même car plus abondantes et plus volatiles, et permettent un repérage à distance. Il est démontré chez plusieurs espèces que les femelles parasitoïdes sont attirées chimiquement par la plante infestée par l'insecte hôte, mécanisme permettant la découverte de ce dernier (Turlings *et al.*, 1990 ; Vet & Dicke, 1992). Cependant, les insecticides peuvent perturber cette reconnaissance de l'hôte en diminuant par exemple la réponse spontanée des *A. ervi* vis-à-vis de l'odeur d'une plante infestée par le puceron hôte (Desneux *et al.*, 2000) ou en changeant le comportement de *L. boulandi* en réponse à des kairomones¹ (Komezha *et al.*, 2001).¹

L'apprentissage sélectif permet à l'animal, entouré par un environnement riche en stimulus, de retenir des informations importantes et de les utiliser à son bénéfice. L'utilisation de signaux chimiques mémorisés pendant la ponte permet ainsi aux parasitoïdes de repérer les plantes abritant les insectes hôtes et d'augmenter ainsi l'efficacité de recherche d'hôtes (Tumlinson *et al.*, 1993 ; Vet *et al.*, 1983). L'exposition à des résidus d'insecticides pourrait comme chez l'abeille, modifier ces capacités d'apprentissage. Rafalimanana *et al.* (2002) ont montré qu'une heure après l'apprentissage, les femelles de *L. heterotoma* exposées au chlorpyrifos éthyle présentent une augmentation plus importante de leur réponse à l'odeur que les individus non traités. Toutefois, 24 heures après apprentissage, la mémoire de l'odeur n'est pas perturbée par l'exposition à l'insecticide.

L'efficacité de la recherche d'insectes hôtes dépend aussi des capacités locomotrices des femelles parasitoïdes, qui peuvent être réduites par certains insecticides (Elzen *et al.*, 1989).

Ces études d'effets sublétaux sur les parasitoïdes sont surtout menées en conditions de laboratoire, et les dispositifs expérimentaux varient en fonction du type de comportement étudié. Les résultats encore fragmentaires, montrent que l'exposition à des résidus

¹ Ce sont des substances allélochimiques émises par un individu à l'intention d'un individu non spécifique et qui se révèlent bénéfiques pour l'organisme qui perçoit le signal (Brown *et al.*, 1970)

d'insecticide peut affecter tous les comportements participant au succès parasitaire, même à des doses n'entraînant aucune mortalité.

3. Conclusion

L'utilisation des insecticides dans le cadre de la lutte intégrée est le plus souvent indispensable pour assurer une production abondante, régulière et de qualité. Les insecticides sont élaborés pour tuer les ravageurs. Cependant, la façon de les utiliser n'est pas toujours compatible avec les activités des abeilles et des parasitoïdes, et peut perturber leurs actions.

L'analyse bibliographique des effets létaux et sublétaux des insecticides montre que les insecticides risquent de modifier les équilibres écologiques, d'autant plus qu'ils participent à la pollution environnementale. Tout ceci démontre le besoin de certaines précisions sur les différentes méthodologies appliquées lors des évaluations des effets létaux et sublétaux pour approfondir les connaissances dans ces domaines.

Nous avons contribué à déterminer les causes de variabilité de la toxicité aiguë chez l'abeille et nous avons analysé la toxicité aiguë chez un parasitoïde de pucerons, *Aphidius ervi*. Compte tenu de l'importance du comportement dans la biologie des insectes et leur efficacité en tant qu'auxiliaires des plantes, nous avons retenu le comportement d'orientation olfactive, commun aux deux types d'insectes, pour évaluer les effets d'insecticides.

Nous avons choisi d'étudier les insecticides neurotoxiques appartenant à deux groupes caractérisés par leur mode d'action : le chlorpyrifos éthyle (organophosphoré) et le pyrimicarbe (carbamate) inhibent l'action de l'acétylcholinestérase ; la deltaméthrine et la cyhalothrine (pyréthrinoïdes) perturbent la fonction des canaux sodium lors de la transmission de l'influx nerveux (Cluzeau & Paternelle, 2000; Worthing, 1979). Nous avons retenu deux modes d'action et deux insecticides par mode afin de tester la sensibilité et la fiabilité de la méthodologie par rapport au mode d'action.

Tableau 9 : Synthèse des études faites sur les effets comportementaux d'insecticides chez les parasitoïdes

Types	Effets comportementaux	Produit	% mort. Ou dose	Parasitoïde, Famille	Insecte hôte	Références
Recherche du partenaire sexuel	Perturbation de la rencontre des sexes et du comportement de cour → réduction % accouplements réussis	Chlorfenvinphos	10- 30 %	<i>Trybliographa rapae</i> , Eucoilidae	<i>Delia spp.</i> Anthomyiidae	Alix <i>et al.</i> , 2001
	- Chez les mâles traités, diminution de la réponse à la phéromone sexuelle femelle ; - Augmentation de la réponse des males à la phéromone, si les femelles traitées	Chlorpyrifos éthyle	DL 0,1	<i>Trichogramma brassicae</i> Trichogrammatidae	Lépidoptères	Delpuech <i>et al.</i> , 1998 b
	- Chez les mâles traités, diminution de la réponse à la phéromone sexuelle femelle ; - Diminution de la réponse des males à la phéromone des femelles traitées	Chlorpyrifos éthyle	DL 20			
Recherche et infestation des hôtes	Passes moins de temps sur les plants quand elles sont traitées	Pirimicarb,	280 g/ha	<i>Diaeretiella rapae</i> , Aphidiidae	<i>Brevicoryne brassicae</i> Aphididae	De Ju & Waage, 1990
	- Parasitoïde passe moins de temps sur les plants traités	Permethrin,	200 ml/ha			
	- Changement de la distribution du temps de recherche alloué aux feuilles selon leur rang	Malathion	2,1 l/ha			
	Altération significative du comportement de vol et de recherche des hôtes	Fenvalerate Chlordimeforme	110 g/ha 140 g/ha	<i>Microplitis croceipes</i> , Braconidae	<i>Heliothis spp.</i> Noctuidae	Elzen <i>et al.</i> , 1989
	Effet répulsif	Deltamethrin	Dose au champ	<i>Aphidius spp</i> Aphidiidae	Aphididae	Longley & Jepson, 1996
	Augmentation de l'activité de marche et changement de distribution des zones explorées : inversion des préférences entre les deux surfaces foliaires	Pirimicarb	500 g/ha	<i>Diaeretiella rapae</i> Aphidiidae	<i>Myzus persicae</i> Aphididae	Umoru <i>et al.</i> , 1996
	Difficulté à découvrir une source de kairomone et tendance à y rester par rapport aux femelles témoins	Chlorpyrifos éthyle	DL 20	<i>Leptopilina bouvardi</i> Eucoilidae	<i>Drosophila melanogaster</i>	Komezha <i>et al.</i> , 2001
	Provoque extension de l'ovipositeur avec dépôt probable d'œufs en dehors des larves hôtes	Chlorfenvinphos	10- 30 %	<i>Trybliographa rapae</i> , Eucoilidae	<i>Delia spp.</i> Anthomyiidae	Alix <i>et al.</i> , 2001
	- Diminution du nombre de larves infestées si parasitoïdes traités - Augmentation du nombre de larves infestées si de larves hôtes traitées Pas d'observation directe du comportement	Chlorpyrifos éthyle	6- 50 %	<i>Leptopilina bouvardi</i> , Eucoilidae	<i>Drosophila melanogaster</i>	Delpuech & Tekinel-Ozalp, 1991
	- Diminution de l'orientation des femelles naïves envers l'odeur de la plante infestée, - Pas d'effet sur l'infestation des pucerons (comportement de ponte) - Pas d'effet de l'orientation des femelles naïves envers l'odeur de la plante infestée ; - Diminution de l'activité d'infestation	Lambda-cyhalothrine	DL 0,1	<i>Aphidius ervi</i> Aphidiidae	Aphididae	Desneux <i>et al.</i> , 2000
	DL 20					
Apprentissage	- Infestation plus rapide des larves hôtes que le témoin → Stimulation de l'activité de ponte - Pas d'effet sur la mémorisation de l'odeur	Chlorpyrifos éthyle	DL20	<i>Leptopilina heterotoma</i> , Eucoilidae	<i>Drosophila melanogaster</i>	Rafalimanana <i>et al.</i> , 2002
	Diminution de la capacité d'orientation des femelles naïves, mais pas après apprentissage	Lambda-cyhalothrine	DL 0,1	<i>Aphidius ervi</i> Aphidiidae	Aphididae	Desneux <i>et al.</i> , 2000

Chapitre 2 : Etude sur la toxicité aiguë chez *A. ervi* et *A. mellifera*

Introduction

Le test de toxicité aiguë en laboratoire, consiste à exposer ou à administrer aux différents lots d'insectes, une dose d'insecticides, dans des conditions bien contrôlées. Il permet de déterminer la dose létale d'une substance active qui entraîne 50 % de mortalité et les résultats seront comparables aux autres études. Cependant, l'étude bibliographique sur la toxicité aiguë des abeilles nous montre une grande variabilité des valeurs de DL50.

L'objectif de cette étude consiste à déterminer la dose létale 50 % (DL50) par un test de toxicité aiguë afin de connaître et de comparer la sensibilité du parasitoïde, *A. ervi* et de l'abeille, *A. mellifera* par rapport à la littérature et de classer les insecticides étudiés selon leur toxicité. La comparaison de la sensibilité des abeilles en fonction du mode d'ingestion et l'analyse du phénomène de trophallaxie dans la distribution des matières actives permettent d'apporter quelques explications sur la variabilité évoquée.

1. Présentation des insecticides retenus pour cette étude

Pour protéger les cultures contre l'attaque des insectes, on utilise différents groupes d'insecticides en fonction de leurs sites d'actions : les neurotoxiques (insecticides cholinergiques, GABA-ergiques, octopaminergiques), les insecticides agissant au niveau du système respiratoire des insectes, les insecticides agissant sur la mise en place des cuticules, les insecticides agissant sur la croissance des insectes (Riba & Silvy, 1989 ; Delorme *et al.*, 2002). Ces insecticides interviennent sur les fonctions vitales des insectes entraînant ainsi leur mort. Les insecticides neurotoxiques représentent près de 90 % des insecticides (Matsumura, 1985).

Pour contrôler les pucerons, on utilise le pyrimicarbe, la lambda cyhalothrine et la deltaméthrine comme des aphicides pour protéger différentes cultures (grandes cultures, cultures légumières et cultures diverses). Le chlorpyrifos éthyleéthyl associé aux pyréthrinoïdes sert à protéger les arbres fruitiers contre la pullulation de pucerons.

Ces insecticides agissent par contact, ingestion et inhalation sur un grand nombre d'insectes et ne sont pas phytotoxiques. Seul le pyrimicarbe est systémique. Le chlorpyrifos

éthyleéthyl et le pyrimicarbe sont classés toxiques pour les animaux à sang chaud (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000).

1.1. Insecticides cholinergiques

1.1.1. Chlorpyriphos éthyleéthyl

Le chlorpyriphos éthyleéthyl synthétisé par DowElanco (U.S.A.), appartient à la famille des organophosphorés.

Le chlorpyriphos éthyleéthyl contrôle l'attaque des Coléoptères, des Diptères, des Homoptères, des Lépidoptères du sol ou aériens et des insectes rampants (contre les Blattellidae, Muscidae, Isoptera...), dans les habitations. On le pulvérise sur les arbres fruitiers (pommiers, citrus, noisetiers...), les fraisiers, les bananiers, la pomme de terre, le tabac, le riz, le coton, la luzerne, les céréales, le maïs, le sorgho, les plantes ornementales et en forêt (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000).

On applique le chlorpyriphos éthyleéthyl en couverture totale ou localisée. Pour lutter contre les insectes terricoles, le traitement est effectué avant le semis avec incorporation dans le sol. Pour les légumes, on ne peut pas l'utiliser au delà de 45 jours avant la récolte. Il se présente sous forme de concentré émulsionnable, liquide pour application à très bas volume, en granulé ou poudre mouillable (Cluzeau & Paternelle, 2000).

On classe le chlorpyriphos éthyleéthyl comme toxique pour les abeilles. On ne connaît pas les effets sublétaux du chlorpyriphos éthyleéthyl chez l'abeille.

Pour les parasitoïdes, une étude a montré que le chlorpyriphos éthyleéthyl se montre modérément toxique pendant le développement larvaire d'*Aphidius matricariae* mais toxique pour les adultes (Hassan *et al.*, 1988). Concernant les effets sublétaux sur les parasitoïdes, le chlorpyriphos éthyleéthyl perturbe la communication sexuelle chez le Trichogramme (Delpuech *et al.*, 1998 a, b), le comportement de recherche d'hôtes (Rafalimanana *et al.*, 2002) et le succès parasitaire (Delpuech & Tekinel-Ozalp, 1991) (Tableau 9).

1.1.2. Pyrimicarbe

Le pyrimicarbe, synthétisé par Zeneca Agrochemicals (UK), appartient à la famille des carbamates.

C'est un insecticide spécifique des Homoptères, et c'est un aphicide sélectif. Il protège les grandes cultures (betteraves, céréales, crucifères oléagineuses...), les cultures légumières et les cultures diverses (tabac, plantes ornementales...) contre les pucerons résistants aux organophosphorés (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000).

Les racines absorbent le pyrimicarbe, le xylème véhicule le produit vers toutes les cellules (action systémique). Le délai de rémanence varie de 3 à 21 jours. Son application est autorisée pendant la floraison et les périodes d'exsudation du miellat dans les conditions préconisées.

Le pyrimicarbe se présente sous forme de concentré émulsionnable ~~et de poudre mouillable~~.

Le pyrimicarbe est l'insecticide le plus sélectif par rapport aux autres organophosphorés, pyréthrinoides et carbamates (Theiling & Croft, 1988). Il est sélectif par rapport à de nombreux insectes auxiliaires (Coccinelles, syrphes, Hyménoptères) (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000). Le pyrimicarbe n'est pas classé comme toxique pour les abeilles. On ne connaît pas les effets sublétaux du pyrimicarbe chez l'abeille.

Concernant les parasitoïdes, la toxicité des résidus de pyrimicarbe sur l'adulte de *Aphidius rhopalosiphi* dépend de la qualité du substrat. Le pyrimicarbe est plus toxique sur un substrat inerte comme un tube en verre que sur les feuilles de plante (Deleu & Mahaut, 1998). Il apparaît moins toxique pour les pupes d'*A. ervi* (Süss, 1983), moyennement toxique lors de tests en serre pour *D. rapae* (Delorme, 1976), et n'a pas d'effet sur l'émergence des adultes de *A. rhopalosiphi* (Jansen, 1996). Les études faites sur les effets sublétaux du pyrimicarbe concernent seulement le comportement de recherche d'hôtes (De Jiu & Waage, 1990 ; Umoru *et al.*, 1996) (Tableau 9).

1.2. Insecticides agissant au niveau des canaux sodium

1.2.1. Lambda cyhalothrine

La lambda cyhalothrine est synthétisée par Zeneca Agrochemicals (UK).

La lambda cyhalothrine contrôle l'attaque des insectes vecteurs de virus, comme les pucerons, et l'attaque des Thysanoptères, des larves de Lépidoptères, des larves et des adultes de Coléoptères, sur céréales, pommes de terre, coton, plantes ornementales, colza... Elle inhibe la pullulation des populations d'acariens phytophages et présente une action ovicide sur les œufs de Lépidoptères, Diptères... (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000).

La lambda cyhalothrine a un effet « knock- down » et une durée d'activité résiduelle longue ; elle persiste dans le sol pendant 3 à 4 semaines. Elle se présente sous forme de concentré émulsionnable ~~et poudre mouillable~~.

Une étude a montré que la lambda cyhalothrine seule n'est pas toxique pour les abeilles (Pilling & Jepson, 1993). Niera et Barriga (1995) ont montré que la lambda cyhalothrine utilisée comme répulsif n'entraîne pas une diminution significative de la durée de butinage de l'abeille sur la fleur.

L'application de la lambda cyhalothrine, 24 heures après le traitement avec du propiconazole, un fongicide inhibiteur de la biosynthèse du stérol, augmente l'effet toxique de l'insecticide. Ceci est dû au fait que le fongicide inhibe la fonction enzymatique de l'abeille permettant de métaboliser et détoxiquer l'insecticide (Pilling & Jepson, 1993).

Chez les parasitoïdes, les études faites sur les effets sublétaux de la lambda cyhalothrine concernent les comportements d'orientation olfactive et de ponte (Desneux *et al.*, 2000) (Tableau 9).

1.2.2. Deltaméthrine

La deltaméthrine est fabriquée par NRDC (UK) et développée par Aventis Crop Science en France.

La deltaméthrine contrôle l'attaque des Coléoptères, des Hétéroptères, des Homoptères, des Lépidoptères, des Thysanoptères. On l'utilise en traitements généraux sur toutes cultures (cultures légumières, céréales, plantes oléagineuses...), arbres fruitiers, cultures forestières (Cluzeau & Paternelle, 2000 ; Worthing, 1979). La deltaméthrine a un effet résiduel qui peut aller de 3 à 4 jours (El-Ansary & El-Zoghby, 1992).

On classe la deltaméthrine comme très toxique pour l'abeille en laboratoire, mais on autorise son utilisation pendant la floraison, en France et dans beaucoup d'autres pays comme Madagascar. Cette autorisation a été accordée à la deltaméthrine en raison de son caractère répulsif qui permettrait aux abeilles d'éviter les zones traitées (Migula *et al.*, 1990 ; Demolis, 1992 ; Mestres & Mestres, 1992).

Concernant les parasitoïdes, on observe un effet toxique similaire, lorsque *A. rhopalosiphii* est exposé à un résidu frais sur verre ou sur feuilles de maïs pendant 24 heures. Appliqué sur les momies, la deltaméthrine réduit légèrement l'émergence mais elle n'a pas d'effet sur la performance reproductive (Jansen, 1996).

Chez l'abeille, les études faites sur les effets sublétaux de la deltaméthrine concernent la diminution de la capacité d'orientation (Vandame *et al.*, 1994) et la diminution de la capacité d'apprentissage (Abramson *et al.*, 2000) (Tableau 8). Chez le parasitoïde, la deltaméthrine exerce un effet répulsif (Longley & Jepson, 1996) (Tableau 9).

2. Toxicité aiguë chez *A. ervi*

2.1. Principe

Il s'agit d'évaluer le taux de mortalité du parasitoïde après 24 heures d'exposition à l'insecticide par contact tarsal. L'analyse de l'effet de concentrations croissantes d'insecticide sur le taux de mortalité de lots d'insectes permet de déterminer la DL50. J'ai réalisé cette étude en collaboration avec Nicolas Desneux au Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés et elle fera l'objet d'une publication en commun.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Parasitoïdes

A. ervi est fourni sous forme de momies ou au stade adulte, par la société Biobest (Belgique). Dans un lot de 250 insectes, 5% sont des mâles. Dès leur réception, on introduit les parasitoïdes dans une boîte en Plexiglass (16 x 12 x 7 cm) contenant une boule de coton imbibée de sirop de miel à 70 %. On place la boîte dans une étuve à une température de $15 \pm 2^\circ\text{C}$, sous une photopériode de 12h : 12h.

Les insectes testés sont âgés d'au moins 3 jours lors du test avec le chlorpyrifos **éthyleéthyl** et les deux pyréthrinoïdes (insectes reçus à l'état adulte), et de 1 à 2 jours lors du test avec le pyrimicarbe (insectes reçus sous forme de momies). Les taux de mortalité dans les témoins restent à peu près les mêmes et sont inférieurs à 10 %.

2.2.2. Insecticides

Nous avons testé des produits techniques à 99 % environ de matière active pour le chlorpyrifos **éthyleéthyl** (99 % de pureté), le pyrimicarbe (99,1 % de pureté), la lambda cyhalothrine (98,5 % de pureté) et la deltaméthrine (99 % de pureté).

Cluzeau InfoLabo, (Sainte-Foy La Grande, France) nous a fourni les matières actives.

La solubilité des deux pyréthrinoïdes dans l'acétone est de 500 g/l, par contre celle du chlorpyrifos **éthyleéthyl** est de 6 500 g/l. Le pyrimicarbe est beaucoup plus soluble dans l'eau (jusqu'à 2,7 g/l) que les trois autres matières actives pratiquement insolubles dans l'eau (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternelle, 2000).

2.2.3. Dispositif expérimental

Deux cent microlitres de solution d'insecticide à tester sont introduits dans un tube en verre à fond plat (L : 9,3 cm ; d : 2,3 cm ; surface interne : 67,37 cm²). Cette quantité est suffisante pour imprégner toute la surface interne du tube. Les tubes subissent des rotations selon leur axe de symétrie jusqu'à ce que la solution ne coule plus. On considère alors qu'elle est répartie de manière homogène. On laisse ensuite les tubes à l'air libre pendant une heure pour être sûr que la totalité de l'acétone se soit évaporée.

On pose deux gouttes de miel, source de nourriture, sur une languette de plastique repliée en V et déposée au fond de chaque tube. On dépose le miel à l'intérieur de la languette pour qu'il ne soit pas en contact avec l'insecticide. On introduit les insectes testés dans le tube qui est ensuite fermé avec du tulle. Et on expose ainsi *A. ervi* au résidu de matière active pendant 24 heures.

L'unité expérimentale est le tube contenant 10 parasitoïdes. Chaque test comprend les modalités de traitements suivantes :

- trois tubes témoins correspondant aux individus soumis à un résidu d'acétone
- trois tubes par dose de matière active testée. Cinq doses croissantes sont utilisées.

On répète 3 fois le test en renouvelant les parasitoïdes et les solutions de traitement.

On détermine la gamme de concentrations testées grâce à une expérience préliminaire réalisée avec 5 doses qui varient selon une progression géométrique de raison 10.

Les insectes testés sont entreposés dans une étuve (15 ± 2 °C ; 12h : 12h ; 55 ± 2 % d'humidité relative). Nous avons gardé les insectes à une température de 15°C pour que le taux de mortalité des insectes témoins soit faible. La durée moyenne de vie des insectes adultes à 15 °C est de 17,5 jours (Pennacchio & Digilio, 1990).

Nous avons considéré comme individus morts, les insectes qui ne tenaient plus leurs pattes.

2.2.4. Analyse statistique

Les données obtenues sont traitées statistiquement par le logiciel WinDL (CIRAD, Montpellier, version 1998), qui permet de modéliser l'effet de concentrations croissantes d'une molécule d'insecticide sur le taux de mortalité de lots d'insectes (relation dose- effet) (CIRAD, 1998). WinDL calcule un ajustement des résultats à une droite, après la transformation logarithmique des concentrations et probit des fréquences cumulées de mortalité (droite de Henry). Ceci permet de résoudre le problème de la régression entre des pourcentages et des doses. La méthode s'inspire du modèle d'analyse proposé par Finney (1971). Le logiciel donne les doses létales à 10, 50 et 90 % et trace le graphique de cette régression linéaire. La mortalité obtenue en fonction de la dose d'insecticide est représentée graphiquement avec une échelle logarithmique pour les abscisses et une échelle probit pour les ordonnées.

2.3. Résultats de la toxicité aiguë

2.3.1. Effets létaux

On obtient les valeurs de DL50 (Tableau 10) à partir de l'analyse de l'effet de doses croissantes des matières actives sur le taux de mortalité de lots d'insectes (Tableau 11). La comparaison des DL50 des insecticides testés montre que le pyrimicarbe se révèle l'insecticide le moins toxique ; le chlorpyriphos éthyleéthyl se montre le plus toxique et les deux pyréthriinoïdes ont une toxicité intermédiaire. On constate une variabilité de sensibilité assez faible entre les différents lots d'insectes puisque les DL50 sont déterminées avec une fiabilité de 8 % pour le chlorpyriphos éthyleéthyl à 16 % pour la deltaméthrine.

Matière active	Equation de droite	χ^2 et p	Lim inf.<DL50 < Lim sup. (ng/cm ²)
Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>	Y= 1,443+ 4,407 X	$\chi^2= 5,531$; p= 0,137	0,43< 0,47 < 0,51
Deltamethrine	Y= -0,156+ 2,885 X	$\chi^2= 6,679$; p= 0,352	2,82< 3,35 < 3,92
Lambda cyhalothrine	Y= 0,754+ 3,37 X	$\chi^2= 7,627$; p= 0,267	4,48< 4,97 < 5,52
Pyrimicarbe	Y= -9,269+ 5,921 X	$\chi^2= 5,923$; p= 0,115	33,50< 36,77 < 39,30

Tableau 10 : Récapitulatif des DL 50 d'insecticides testés sur *A. ervi* après 24 heures de traitement (χ^2 : Chi deux ; p : probabilité)

(Plus le χ^2 est faible meilleur est l'ajustement au modèle de régression linéaire, et donc la fiabilité de la DL50. La valeur de DL50 est considérée comme valide lorsque $p \geq 0,05$ % : il n'y a pas de différence significative entre les mortalités observées et les valeurs prédites par le modèle.)

Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>		Pyrimicarbe		Deltamethrine		Lambda cyhalothrine	
Dose (ng/cm ²)	Mortalité corrigée(%)	Dose (ng/cm ²)	Mortalité corrigée(%)	Dose (ng/cm ²)	Mortalité corrigée(%)	Dose (ng/cm ²)	Mortalité corrigée(%)
0,22	8,67	25,53	5,96	0,29	0	0,29	0,90
0,27	15,26	31,76	10,43	0,59	0	0,59	0,5
0,34	28,79	39,78	19	1,17	14,03	1,17	7,8
0,43	37,11	49,87	54,78	2,34	21,1	2,34	31,2
0,54	63,28	62,34	64,61	4,69	51,72	4,69	71,6

Tableau 11 : Effets de doses croissantes des matières actives sur le taux de mortalité d'*A. ervi*

On obtient le quotient de risque par le rapport entre la dose d'application au champ et la DL50 de l'insecticide considéré. Contrairement aux abeilles, il n'y a pas d'unité standardisée pour le calcul du quotient de risque pour les insectes entomophages, mais le plus logique est d'exprimer le numérateur (dose d'application au champ) et le dénominateur (DL50) dans la même unité. Si le quotient de risque est supérieur ou égal à 8 pour les *Aphidius*, il est nécessaire de confirmer la toxicité du produit par la recherche d'effets létaux et sublétaux en conditions semi-naturelles et naturelles (Candolfi *et al.*, 2000 a).

Pour la deltaméthrine, la lambda cyhalothrine et le pyrimicarbe, j'ai pris les doses d'application contre les pucerons sur colza, cette culture étant aussi très visitée par les abeilles. Comme le chlorpyriphos éthyleéthyl n'est pas utilisé sur colza, nous avons donc calculé le coefficient de risque en verger de pêchers. Le tableau 12 nous indique que les insecticides que nous avons testés présentent un risque élevé dans une situation agronomique.

Matière active	DL50	Dose au champ	Quotient de risque
Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>	0,16 mg/l	50 g/hl sur verger	312,5
Deltaméthrine	3,35 ng/cm ²	6,25 g/ha sur colza	18,66
Lambda cyhalothrine	4,97 ng/cm ²	7,5 g/ha sur colza	15,09
Pyrimicarbe	36,77 ng/cm ²	250 g/ha sur colza	67,99

Tableau 12 : Quotients de risque à 15°C pour les insecticides testés sur *A. ervi*

2.3.2. Effets morphologiques

Après exposition au chlorpyriphos éthyleéthyl, certains individus survivants présentent une modification de posture. Ils gardent souvent leur abdomen replié vers l'avant, en posture de ponte. Ils ont ce comportement en restant immobiles et en se déplaçant, mais leur activité locomotrice apparaît normale. Le témoin ne présente pas ce changement de posture. La

proportion d'individus présentant un abdomen plié augmente avec les doses de chlorpyrifos éthyleéthyl (Figure 39).

Le coefficient de corrélation 0,90 donné par régression linéaire entre taux de mortalité et taux d'abdomen plié, sur les 6 essais réalisés, a montré que la proportion d'individus survivant et présentant un abdomen plié a un rapport étroit avec le taux de mortalité. La droite de regression est la suivante : $Y = 7,12 + 1,44 X$ (X : % mortalité ; Y : % individus présentant un abdomen plié)

Figure 39 : *A. ervi* présentant un abdomen plié après 24 heures d'exposition au chlorpyrifos éthyleéthyl (n= individus survivants)

2.4. Discussion

En considérant les DL50 et le quotient de risque, on constate que le chlorpyrifos éthyleéthyl reste toujours plus toxique que les trois autres matières actives. Les pyréthriinoïdes présentent moins de risque que le pyrimicarbe, même si les DL 50 obtenues au laboratoire indiquent que les parasitoïdes se montrent plus sensibles aux pyr^éethriinoïdes qu'au pyrimicarbe. Le classement de la toxicité du chlorpyrifos éthyleéthyl confirme le résultat de Hassan *et al.* (1988) obtenu sur *Aphidius*. Aucune des matières actives testées ne présente de faible risque sur *A. ervi*. Le risque que présentent les insecticides au champ dépend non seulement de la quantité de matière active épandue mais aussi de l'effet synergique ou antagoniste des adjuvants d'un produit commercial que nous n'avons pas pris en compte ici.

Dans la littérature, il existe très peu de données de DL 50 sur des espèces d'Aphidiidae. Ternes *et al.* (2001) rapportent une valeur de 0,48 ng/cm² pour le diméthoate sur l'espèce *A. ropalosiphi*. Au LNCI, nous avons les valeurs de DL 50 de la deltaméthrine pour trois espèces d'Aphidiidae : notre 3,35 ng/cm² pour *A. ervi* et 1,01 ng/cm² pour *Aphidius matricariae* et 1,36 ng/cm² pour *Diaeretiella rapae* (Cheron, 2000). Ces valeurs sont assez proches si on considère les bornes inférieures et supérieures des intervalles de confiance. La moindre sensibilité d'*A. ervi* serait due à sa plus grande taille par rapport aux deux autres espèces élevées au LNCI, la taille des Aphidiidae variant selon la taille du puceron d'élevage. Ces quelques valeurs indiquent que la sensibilité des *Aphidius* varierait donc peu d'une espèce à l'autre, ce qui serait à confirmer sur un plus grand nombre d'espèces. Par ailleurs, on peut déterminer aisément les DL50 des matières actives sur les *Aphidius* adultes.

Le phénomène de courbure de l'abdomen apparaît comme un effet sublétal du chlorpyrifos éthyleéthyl. Les femelles présentant cette anomalie ont un comportement locomoteur normal en olfactomètre (Cf § 2^{ème} partie- chap. 3 : 2.5). La courbure de l'abdomen de *A. ervi* s'explique par le mode d'action du chlorpyrifos éthyleéthyl qui inhibe l'action de l'acétylcholinestérase. L'acétylcholinestérase est un enzyme intervenant au niveau des synapses lors de la transmission de l'influx nerveux. Quant l'insecte est intoxiqué par le chlorpyrifos éthyleéthyl, les synapses continuent de transmettre des influx nerveux après la stimulation alors que normalement elles s'arrêtent (Padilla, 1995). Il est probable que le phénomène de courbure de l'abdomen gêne le comportement de ponte, mais cela reste à établir chez *A. ervi*.

3. Toxicité aiguë chez *A. mellifera*

3.1. Introduction

La synthèse bibliographique sur l'étude de la toxicité aiguë par ingestion chez l'abeille montre une variabilité des DL50 selon les auteurs (Tableau 7). En effet, dans le cas d'une ingestion collective, on n'arrive pas à contrôler la quantité reçue par abeille lors de la détermination de la DL50. Une variabilité dans le phénomène de trophallaxie peut interférer sur la répartition homogène d'insecticide, et entraîne une estimation imprécise de la DL50. La comparaison des DL50 obtenues par ingestion collective et par ingestion individuelle, suivie de l'analyse de l'importance du phénomène de trophallaxie, permettent d'apporter une information supplémentaire sur l'origine de la variabilité de la sensibilité de l'abeille aux produits toxiques. Avant d'entamer ces analyses, il est nécessaire de connaître la sensibilité des abeilles vis-à-vis des matières actives testées.

3.2. Evaluation de la toxicité aiguë d'après la méthode C.E.B. n°95

3.2.1. Matériel

*** Abeilles**

Nous avons testé des ouvrières prélevées sur les cadres de miel et de pollen de ruches, d'âge indéterminé, ne présentant pas de symptômes pathologiques et non traitées avec des acaricides (contre le varroa, acarien parasite d'abeilles). Nous avons testé les abeilles d'été, c'est-à-dire collectées entre le début du mois de juin et la fin du mois de septembre. On réalise les expériences sur des ruches différentes, une ruche par produit, pour éviter l'épuisement de la colonie. Sur le plan génétique, les ouvrières testées proviennent de reines « tout venant » [*(Ligustica x mellifera x mellifera) x mellifera*].

On regroupe les 20 abeilles par cagette d'élevage, cagette Pain (1966) (10 x 8,5 x 6 cm), la veille du test. On place les cagettes d'élevage dans une étuve réglée à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, à l'obscurité et à une humidité relative de 50 à 70 %. Pendant toute la durée du test, on donne aux abeilles du sirop de saccharose à la concentration de 500 g/l.

* Insecticides testés

Nous avons testé le chlorpyrifos éthyleéthyl, la deltaméthrine et la lambda cyhalothrine. Le pyrimicarbe n'a pu être testé dans les délais de la thèse.

La C.E.B. n°95 (C.E.B., 1996), recommande d'utiliser le diméthoate comme référence toxique. Le diméthoate synthétisé par Montedison (Italie) et American cyanamid (U.S.A.), appartient à la famille des organophosphorés. On utilise le produit technique à 98,5 % de matière active.

Le diméthoate classé très toxique pour les abeilles, possède une valeur de DL50 similaire par contact et par ingestion (Stevenson, 1978), qui est de plus peu variable. Des tests menés pendant trois ans ont indiqué une variation de la DL50 inférieure à 10% (Stevenson, 1968). Le diméthoate a une propriété systémique dans la plante. Il se concentre dans le nectar et devient toxique pour les abeilles butineuses (Barker *et al.*, 1980). Il persiste pendant 3 à 4 semaines et est appliqué sur les grandes cultures, arbres fruitiers et les cultures forestières contre l'attaque des insectes (Lépidoptères, Diptères). Pour protéger les abeilles, on interdit son utilisation durant la période de floraison (Cluzeau & Paternelle, 2000).

3.2.2. Méthode C.E.B. n°95

La méthode C.E.B. n° 95 recommande de tester deux modes d'expositions : l'application topique où on contrôle la quantité reçue par abeille, et l'ingestion collective, où le phénomène de trophallaxie assure la distribution du sirop toxique.

L'unité expérimentale est la cagette Pain (1966) de 20 abeilles. Chaque modalité de traitement comprend 3 cagettes d'abeilles. On répète les tests 3 fois en renouvelant les abeilles et les solutions de traitement. C'est à partir de 180 individus par dose testée qu'on établit la DL50.

On détermine la gamme de concentrations à partir d'une expérience préliminaire réalisée avec 5 doses qui varient selon la progression géométrique de raison 10.

*** Application topique**

On dissout les matières actives dans de l'acétone (pureté : 99%).

On applique 1 μ l d'acétone contaminé sur le thorax de l'abeille en utilisant une micropipette de 2 μ l. Avant le traitement, les abeilles sont anesthésiées en diffusant du dioxyde de carbone dans la cage d'élevage durant environ 30 secondes et sous une pression de 0,4 bars. Le traitement se déroule à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Chaque test comprend les modalités de traitements suivantes :

- trois cagettes témoins correspondant aux individus ayant reçu 1 μ l d'acétone non contaminé.
- pour la matière active testée, 3 cagettes par dose, et 5 doses croissantes.
- pour la référence toxique, 3 cagettes pour le diméthoate à dose faible (0,10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) et 3 cagettes à dose forte (0,25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$).

Pendant toute la durée du test, les abeilles sont alimentées *ad libitum* avec du sirop de saccharose à 500 g/l.

Les cagettes d'élevage sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, à une humidité relative de 50 à 70% avant et après traitement.

*** Ingestion collective**

La concentration en acétone dans le sirop de traitement est de 10 %.

Avant le traitement, les abeilles sont soumises à un jeûne de 2 heures dans une enceinte climatisée à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et à l'obscurité, pour favoriser le phénomène de trophallaxie (échange de nourriture) et pour induire un même niveau d'appétit

Pendant le test, on place les abeilles à la lumière, à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Chaque lot d'abeille est nourri de 200 μ l d'une solution de saccharose à 500 g/l (soit 10 μ l/abeille) contenant le produit à tester à une des doses de la gamme.

Après avoir consommé le sirop contaminé, les abeilles sont alimentées avec du sirop de saccharose non contaminé. Les abeilles traitées sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée (Température $25 \pm 2^\circ\text{C}$, à une humidité relative de 50 à 70%).

Si les abeilles n'ont pas consommé la totalité du sirop contaminé dans une période de 6 heures, ce dernier est remplacé par du sirop sain et la quantité de sirop contaminé consommée est notée.

Chaque test comprend les modalités de traitements suivantes :

- trois cagettes témoins correspondant aux individus ingérant le sirop contaminé avec de l'acétone.
- pour la matière active testée, 3 cagettes par dose, et 5 doses croissantes.
- pour la référence toxique, 3 cagettes pour le diméthoate à dose faible (1 µg/µl) et 3 cagettes à dose forte (3,5 µg/µl).

*** Paramètres mesurés et domaine de validité**

Les mortalités sont enregistrées 4, 24 et 48 heures après le traitement. Les abeilles immobiles et gisantes sont comptabilisées comme mortes.

Selon la méthode C.E.B. n°95, pour que le test soit valide, la mortalité dans la cage témoin doit être inférieure ou égale à 10 %. De plus, les pourcentages de mortalité avec le diméthoate doivent être proches ou supérieurs à 50 %. Et la DL50 calculée doit être comprise entre les deux doses extrêmes testées. Les données obtenues sont traitées statistiquement par le logiciel WinDL (cf § 2^{ème} partie- Chap.2 : 2.2.4).

3.2.3. Résultats de la toxicité aiguë

Les valeurs de DL50 varient en fonction du mode de traitement et de matières actives testées (Tableau 13). On observe une grande différence des valeurs des DL50 par ingestion des pyréthrinoïdes par rapport à celles de la littérature. La toxicité par application topique est aisément comparable à celle de la littérature.

Insecticides	DL 50 litt.* ng/ab	Lim inf.<DL50 <Lim sup (ng/abeille)		Equation de droite- χ^2 ; p	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Application topique					
Lambda Cyhalothrine	909	91,05< 109,72 <125,90	87,47< 104,60 <119,38	Y= -6,42+ 3,14 X $\chi^2= 3,60$; p= 0,308	Y= -6,88+ 3,41 X $\chi^2=2,60$; p=0,458
Deltaméthrine	51	28,89 < 36,12 < 41,73	27,25< 34,30 < 39,80	Y= -5,38+ 3,45 X $\chi^2= 2,64$; p= 0,451	Y= - 5,44+ 3,54 X $\chi^2=0,57$; p= 0,903
Chlorpyriphos éthyleéthyl	59	30,81< 34,55 < 37,63	28,80< 33,32 < 37,02	Y= - 7,53+ 4,89 X $\chi^2= 2,95$; p= 0,229	Y= -6,76+ 4,44 X $\chi^2=4,43$; p=0,297
Ingestion collective					
Lambda Cyhalothrine	38	113,84< 239,50 <532,5	181,99< 241,25 <297,9	Y= -5,03+ 2,11 X $\chi^2= 5,039$; p= 0,169	Y= -5,03+ 2,11 X $\chi^2= 5,039$; p= 0,169
Deltaméthrine	79	455,06< 621,81 <749,32	448,76< 619,87 <750,02	Y= -9,49+ 3,40 X $\chi^2= 5,57$; p= 0,134	Y= -9,41+ 3,37 X $\chi^2= 5,66$; p= 0,130
Chlorpyriphos éthyleéthyl	250	153,08< 164,05 <173,35	153,30< 164,34 <173,77	Y= -12,74+ 5,75 X $\chi^2= 4,25$; p= 0,236	Y= -13,00+5,87 X $\chi^2= 4,418$; p=0,220

Tableau 13 : DL 50 par application topique et par ingestion collective d'insecticides testés sur les abeilles (* : DL50 littérature : Worthing, 1979 ; χ^2 : Chi deux ; p : probabilité)

(Plus le χ^2 est faible meilleur est l'ajustement au modèle de régression linéaire, et donc la fiabilité de la DL50. La valeur de DL50 est considérée comme valide lorsque $p \geq 0,05$ % : il n'y a pas de différence significative entre les mortalités observées et les valeurs prédites par le modèle.)

Lambda cyhalothrine			Deltaméthrine			Chlorpyriphos éthyleéthyl		
Dose (ng/ab)	Mort. corrigée (%)		Dose (ng/ab)	Mort. corrigée (%)		Dose (ng/ab)	Mort. corrigée (%)	
	24 h	48 h		24 h	48 h		24 h	48 h
Application topique								
48,00	9,60	9,89	15,11	10,00	11,11	17,48	6,74	8,29
72,00	30,51	31,98	11,67	25,56	26,11	26,22	26,40	32,54
108,00	53,11	53,49	34,00	41,67	47,22	39,33	65,73	66,27
162,00	68,93	70,93	51,00	72,78	78,89	59,00	84,83	84,02
243,00	84,75	90,12	76,5	86,67	89,44	88,5	100	100
Ingestion collective								
168,89	35,19	35,19	294,44	13,89	14,44	83,87	5,02	4,58
253,33	50,28	50,28	441,67	26,67	26,67	104,96	11,17	10,23
380,00	71,51	71,51	662,50	60,56	60,56	131,20	28,49	28,41
570,00	79,89	79,89	993,75	72,78	72,78	164,00	55,86	55,68
855,00	83,24	83,24	1490,62	90,00	90,00	205,00	83,24	82,95

Tableau 14 : Effets de doses croissantes des matières actives sur le taux de mortalité chez *A. mellifera*

On obtient le quotient de risque chez l'abeille par le rapport entre la dose d'application au champ (g/ha) sur la DL50 (ng/abeille) (Smart & Stevenson, 1982). Les matières actives présentent un faible risque si le quotient de risque est inférieur à 50 et un risque élevé pour un quotient supérieur à 2 500 (Smart & Stevenson, 1982 ; Sauphanor *et al.*, 1992). Nous n'avons pas calculé le quotient de risque du chlorpyrifos éthyleéthyl car il n'est pas utilisé sur le colza. La deltaméthrine a un risque supérieur à celle de la lambda cyhalothrine. La valeur du risque est plus élevée quand elle est évaluée par application topique, deux fois plus élevée pour la lambda cyhalothrine et 17 à 19 fois plus élevée pour la deltaméthrine (Tableau 15).

	Dose au champ colza	Application topique		Par ingestion	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Lambda Cyhalothrine	7,5 g/ha	45,45 Risque faible	48,08 Risque faible	20,88 Risque faible	20,72 Risque faible
Deltaméthrine	6,25 g/ha	173,03 Risque moyen	189,50 Risque moyen	10,45 Risque faible	10,48 Risque faible

Tableau 15 : Quotients de risque de deux pyrethriinoïdes chez *A. mellifera*

3.2.4. Discussion

Les insecticides testés ont une même toxicité 24 et 48 heures après le traitement par ingestion collective et après l'application topique. La toxicité aiguë des deux matières actives en conditions de laboratoire peut donc être évaluée 24 heures après le traitement.

Concernant le mode de traitement, l'abeille domestique est plus sensible à l'insecticide par application topique que par ingestion collective. Les résultats obtenus peuvent s'expliquer par la capacité de l'abeille à métaboliser les matières actives en fonction de leurs voies de pénétration. Le produit ingéré passe dans les organes de détoxification (intestin moyen, tubes de Malpighi), avant d'être réparti dans tout le corps (Gilbert & Wilkinson, 1975). Par contre, le produit appliqué sur le thorax traverse la cuticule au travers des canalicules cireux (Noble-Nesbitt, 1970) et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus lipophiles. L'hémolymphe véhicule la molécule dans tout le corps de l'insecte (Burt *et al.*, 1971). Il a été démontré qu'on observe une accumulation progressive des molécules toxiques dans la corde nerveuse puis dans les corps gras (site à monooxygénases) chez la blatte *Periplaneta americana* (Soderlund *et al.*, 1983).

De plus, les DL50 par application topique ne sont pas seulement dues à l'action des matières actives mais elles sont aussi liées à l'anesthésie. L'immobilisation des abeilles par le dioxyde de carbone avant l'application topique de l'acétone contaminé intensifie l'action des matières actives. L'anesthésie par le dioxyde de carbone exerce directement au niveau du

système nerveux, *via tracheae*, un effet de dépolarisation du neurone. Le gaz a un effet sur l'acétylcholine et influence la quantité de neurotransmetteurs comme la dopamine et l'octopamine (Nicolas & Sillans, 1989), favorisant ainsi la paralysie.

La comparaison des DL50 par application topique montre que le chlorpyriphos ~~éthyleéthyl~~ et la ~~deltaméthrine~~ sont ~~est le~~s plus toxiques. ~~La toxicité de la deltaméthrine et de la lambda cyhalothrine est comparable.~~ Les DL50 par application topique de la deltaméthrine et du chlorpyriphos ~~éthyleéthyl~~ sont comparables aux données de la littérature. Par contre la DL50 de la lambda cyhalothrine est environ 9 fois plus toxique que les données de la littérature (Worthing, 1979 ; Cluzeau & Paternel, 2000).

Concernant la toxicité par ingestion, le chlorpyriphos ~~éthyleéthyl~~ reste le plus toxique. La lambda cyhalothrine est environ 2,5 fois plus toxique que la deltaméthrine. Cette différence peut s'expliquer par la vitesse de métabolisation. On sait que l'abeille métabolise en quelques heures la lambda cyhalothrine (Pilling *et al.*, 1995) mais aucune étude n'a encore été faite sur la métabolisation de la deltaméthrine et du chlorpyriphos ~~éthyleéthyl~~.

Par rapport aux valeurs trouvées dans la littérature (Worthing, 1979), ~~nos abeilles sont 6 fois plus résistantes à~~ la lambda cyhalothrine ~~et la deltaméthrine sont respectivement 6 fois et 8 fois moins toxiques pour nos abeilles et 8 fois plus à la deltaméthrine~~, et ~~moins résistantes au~~ le chlorpyriphos ~~éthyleéthyl est plus toxique~~, d'après nos valeurs de DL 50 établies par ingestion collective. Par rapport aux valeurs de DL 50 données par *Atkins et al.* (1981), qui sont comprises entre 4 et 67 ng/abeille, notre valeur de DL 50 pour la deltaméthrine indique une toxicité environ 10 à 150 fois inférieure. Le fait que nous déterminions une moindre toxicité de la deltaméthrine par rapport aux valeurs données par *Atkins et al.* et Worthing, peut s'expliquer par des divergences dans le protocole expérimental utilisé. La DL50 de la deltaméthrine rapportée par Worthing est celle de Stevenson (1968). Stevenson a ainsi déterminé la toxicité aiguë de la deltaméthrine en nourrissant les abeilles avec un sirop à 20 % de saccharose, contenant 5 % d'acétone et son unité expérimentale est de 10 abeilles par cagette. Notre sirop de saccharose était à 50 %, contenant 10 % d'acétone et dont le test est réalisé sur l'unité expérimentale de 20 abeilles par cagette. Or la concentration en saccharose dans la nourriture est inversement proportionnelle à la toxicité des pesticides, pour deux raisons : elle conditionne la rapidité du passage des pesticides dans l'intestin grêle (*Conner et al.*, 1978), et la production d'énergie permettant à l'abeille de métaboliser l'insecticide.

Par ailleurs, plus le nombre d'abeilles dans chaque cagette est élevé, plus la compétition alimentaire et le phénomène de trophallaxie entraînent une variation de la toxicité (Stevenson, 1978).

3.3. Comparaison de deux modes d'exposition par ingestion : collective et individuelle

La toxicité aiguë par ingestion en suivant la méthode C.E.B. n°95 varie d'un facteur 6 à plus de 150 entre les différentes valeurs rapportée par la littérature. Pour pouvoir apporter une précision sur la variabilité de sensibilité de *A. mellifera* vis-à-vis de la deltaméthrine et du chlorpyrifos éthyleéthyl, nous avons comparé en laboratoire la toxicité par ingestion collective et individuelle, en nous référant à la méthode C.E.B. n°95.

3.3.1. Matériel

Nous avons comparé la deltaméthrine et le chlorpyrifos éthyleéthyl qui se différencient par leur mode d'action et leurs effets sur les insectes. Pour valider notre étude nous avons aussi testé les deux doses de diméthoate.

Nous avons apporté des amendements à la méthode d'ingestion individuelle telle qu'elle a été utilisée par une société Envirotest (Elisabeth S., Communication personnelle) et précédemment au Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés (Decourtye, 2002).

On dissout la matière active dans de l'acétone pure. Le sirop de saccharose à 500 g/l utilisé contient 10 % d'acétone contaminé.

3.3.2. Méthode

*** Modalité de traitement**

Avant le traitement, les abeilles sont soumises à un jeûne de 2 heures dans une enceinte climatisée à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et dans l'obscurité, pour favoriser le phénomène de trophallaxie et pour que les abeilles aient un même niveau d'appétit.

Pendant l'ingestion du sirop contaminé, les abeilles sont placées à la lumière à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pour l'ingestion collective, chaque groupe d'abeilles est nourri de 200 μl de sirop contaminé, durant 6 heures au plus (Figure 40).

Dispositif expérimental

Pour l'ingestion individuelle, après le jeûne, les abeilles sont pulvérisées avec un peu d'eau afin de faciliter leur manipulation pour les isoler dans des tubes individuels (cage à reine, système Nicot, Ickowicz) (Figure 41). Chaque abeille est nourrie de 10 µl de sirop contaminé pendant une heure. Il est à noter que les abeilles ne peuvent pas être séparées trop longtemps de leur colonie, car elles risquent d'être agressées lors de leur réintroduction dans le groupe. Les abeilles ayant consommé la totalité du volume administré sont regroupées dans leur cage d'origine et sont alimentées avec du sirop de saccharose non contaminé. Les individus n'ayant pas consommé la totalité du volume administré sont éliminés. Cette élimination fait que le nombre d'abeilles par cagette est variable.

Les abeilles traitées sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée ($T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$; HR = 50-70 %).

*** Dispositif expérimental**

L'unité expérimentale est une cagette contenant 20 abeilles. Chaque test comprend les modalités de traitement suivantes :

- 3 cagettes témoins correspondant aux individus ingérant le sirop contaminé avec de l'acétone.
- 3 cagettes correspondant aux individus ingérant le sirop contaminé avec une dose du produit testé, 5 doses croissantes étant testées.
- 3 cagettes pour le diméthoate à dose forte (3,5 µg/µl) et 3 cagettes à dose faible (1 µg/µl).

Le test est répété trois fois.

Les mortalités sont enregistrées 4, 24 et 48 heures après le traitement. Les abeilles immobiles ou agonisantes sont comptabilisées comme mortes.

*** Analyse des données**

Nous avons d'abord déterminé la DL 50 du chlorpyrifos éthyleéthyl et de la deltaméthrine pour l'ingestion collective et l'ingestion individuelle (méthode statistique cf § II 2.2.4).

Pour analyser les facteurs contribuant aux différences de toxicité observées entre les deux modes d'ingestion, nous avons analysé les effets du nombre d'abeilles par cagette, du mode d'ingestion, et de la dose (l'effet dose étant emboîté dans l'effet mode d'ingestion) sur la mortalité, en appliquant l'analyse de variance par « generalized linear model » (G.L.M. ou

modèle linéaire généralisé), adapté pour la distribution de la variable (nombre d'abeilles mortes) selon une loi de Poisson.

De plus, pour chaque mode d'ingestion, nous avons analysé l'effet dose sur le taux de mortalité, par une analyse de variance adaptée à une variable suivant une Loi de Poisson, suivie d'une comparaison multiple de Bonferroni.

Enfin, pour analyser l'effet du mode d'ingestion sur le taux de mortalité entraîné par une dose forte et une dose faible de diméthoate, nous avons également appliqué l'analyse de variance GLM.

3.3.3. Résultats

* Détermination des DL 50 (Tableau 16)

Les résultats obtenus après 24h et 48h de traitement ne sont pas différents. Pour le chlorpyrifos, l'ingestion individuelle n'entraîne pas de mortalité significative, alors qu'en ingestion collective, nettement plus toxique, nous avons pu calculer une DL 50 de 164 ng/abeille, validée par le modèle de régression linéaire. Pour la deltaméthrine, la DL 50 moyenne apparaît supérieure quand l'ingestion est collective, mais les intervalles de confiance des DL 50 en ingestion collective et en ingestion individuelle se recoupent, et la valeur de DL 50 calculée pour l'ingestion individuelle n'est pas validée par le modèle. Donc on ne peut conclure que la DL 50 dépend du mode d'ingestion.

Insecticides	Mode d'ingestion	Lim inf.<DL50 <Lim sup (ng/abeille)	Equation de droite	Valeurs χ^2 ; p
24 heures après ingestion				
<u>Chlorpyrifos éthyl</u>	Individuelle	Peu de mortalité	-	-
	Collective	153,08< 164,05 <173,35 valable	Y= -12,74+ 5,75 X	$\chi^2= 4,25$; p= 0,236
<u>Deltaméthrine</u>	Individuelle	11,16<311,19<663,59 hétérogène	Y= -3,35+ 1,34 X	$\chi^2= 10,68$; p= 0,014
	Collective	264,34< 401,65 <542,39 valable	Y= -3,29+1,26 X	$\chi^2= 2,76$; p= 0,430
48 heures après ingestion				
<u>Chlorpyrifos éthyl</u>	Individuelle	Peu de mortalité	-	-
	Collective	153,30< 164,34 < 73,77 valable	Y= -13,00+5,87 X	$\chi^2= 4,418$; p=0,220
<u>Deltaméthrine</u>	Individuelle	25,98<295,97<579,22 hétérogène	Y=-3,77+ 1,52 X	$\chi^2= 10,62$; p= 0,014
	Collective	289,80< 364,18 <428,48 valable	Y=-3,35+ 1,31 X	$\chi^2= 6,36$; p= 0,095

Tableau 16 : Valeurs des DL50 du chlorpyriphos éthyleéthyl et de la deltaméthrine administrés en ingestion collective ou individuelle

(Plus le χ^2 est faible meilleur est l'ajustement au modèle de régression linéaire, et donc la fiabilité de la DL50. La valeur de DL50 est considérée comme valide lorsque $p \geq 0,05$ % : il n'y a pas de différence significative entre les mortalités observées et les valeurs prédites par le modèle.)

* Analyses de variance de la mortalité

Pour le chlorpyriphos éthyleéthyl, que ce soit après 24 ou 48 heures de traitement, cette analyse confirme un effet hautement significatif du mode d'ingestion sur la mortalité provoquée. Il n'y a pas d'effet du nombre d'abeilles par cagette. Il y a un effet dose très significatif en ingestion collective. En effet, les doses croissantes de 83,87 à 205 ng/abeille entraînent des mortalités significativement différentes (ddl= 5 ; $p < 0,0001 = 0,984$ après 24 heures et ddl= 5 ; $p = 0,923$ après 48 heures après ingestion de traitement collective) et croissantes, allant de moins de 10 % à plus de 60 % (Figure 42) ; la mortalité étant similaire après 48 heures de traitement, elle n'a pas été représentée.

Pour la deltaméthrine, il n'y a pas d'effet significatif du mode d'ingestion sur la mortalité provoquée (Tableau 17), ce qui est cohérent avec la comparaison des DL 50. Il y a un effet significatif du nombre d'abeilles par cagette. Ce nombre varie de 15 à 20 en ingestion individuelle, alors qu'en ingestion collective, le nombre d'abeilles par cagette est invariable, pour une raison de protocole. La variation du nombre d'abeilles par cagette a un effet sur la mortalité car cette dernière est mesurée par le nombre d'abeilles mortes et non le pourcentage. L'effet dose est hautement significatif dans les deux modes d'ingestions. En ingestion collective, les doses de 294,44 à 1490,62 ng/abeille entraînent des mortalités significativement différentes (ddl= 5 ; $p \leq 0,0001$ après 24 et 48 heures de traitement), croissant de 30 à plus de 60%. En ingestion individuelle, les mortalités diffèrent significativement selon les doses (ddl= 5 ; $p < 0,0001$ après 24 et 48 heures de traitement), mais selon une progression qui n'est pas continue : la dose de 662,5 ng/abeille entraîne une moindre mortalité que la dose qui précède (Figure 43). Nous ne présentons que les résultats 24 heures après ingestion car la toxicité est la même à 24 et 48 heures.

Insecticides	Effet nombre abeilles/cagette	Effet du mode d'ingestion	Effet dose
24 heures après ingestion			
Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>	0,105	<0,0001	<u>0,000</u> < <u>0,001</u>
Deltaméthrine	<u>0,015</u> 0,015	0,145	< <u>0,001</u> <u>0,000</u>
48 heures après ingestion			
Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>	<u>0,402</u> 0,402	<0,0001	< <u>0,001</u> <u>0,000</u>
Deltaméthrine	0,010	0,193	< <u>0,001</u> <u>0,000</u>

Tableau 17 : Probabilités obtenues après aAnalyse de variance de la mortalité des abeilles en fonction du mode d'ingestion de chlorpyriphos éthyleéthyl et de deltaméthrine

Figure 42 : Effet dose du chlorpyriphos éthyleéthyl sur le taux de mortalité 24 heures après ingestion (barre d'erreur-type ; Analyse de variance : *** : $p < 0,001$; ns : $p > 0,05$; $n = 180$ par dose ; les taux de mortalité indexés avec des lettres différentes sont significativement différents par le test de comparaisons multiples de Bonferroni)

Figure 43 : Effet dose de la deltaméthrine sur le taux de mortalité 24 heures après ingestion (barre d'erreur-type ; *** : $p < 0,001$; $n = 180$ par dose ; les taux de mortalité indexés avec des lettres différentes sont significativement différentes entre elles)

La toxicité du diméthoate est significativement plus élevée après ingestion collective, à dose faible, mais on n'observe aucune différence entre les deux modes d'ingestion à dose forte (Tableau 18 ; Figure 44).

Figure 44 : Taux de mortalité après 24 heures d'ingestion individuelle ou d'ingestion collective de diméthoate ($n = 420$)

Dim <u>é</u> thoate	Mode d'ingest.	Effet dû au traitement 24 h après ingestion			Effet dû au traitement 48 h après ingestion		
		% mortalité $\pm \sigma^2$	ddl	p (Chi) ²	% mortalité $\pm \sigma^2$	ddl	p (Chi) ²
Forte	Indiv	87,31 \pm 5,67	7	0,63	83,57 \pm 5,72	7	0,63
	Collect	82,62 \pm 3,96			82,62 \pm 3,96		

Faible	Indiv	44,29± 6,44	7	0,0065	45,71± 6,12	7	0,0018
	Collect	31,67± 4,52			33,33± 4,45		

Tableau 18 : Analyse statistique des pourcentages de mortalité après 24 et 48 heures d'ingestion individuelle et d'ingestion collective de diméthoate

3.3.4. Discussion

La différence observée entre les effets de la deltaméthrine et du chlorpyriphos éthyleéthyl s'explique probablement par la vitesse d'action des produits. La deltaméthrine se caractérise par son effet « knock-down » (Mestres & Mestres, 1992 ; Worthing, 1979), qui paralyse rapidement l'abeille lors de l'ingestion de sirop contaminé. Cet effet arrêterait la trophallaxie. Alors, les quantités de sirop ingérées individuellement seraient les mêmes en ingestion collective et individuelle.

Par contre le chlorpyriphos éthyleéthyl agit plus lentement sur les abeilles, les laissant ingérer une quantité importante de sirop contaminé. Ces dernières distribuent le sirop par le phénomène de trophallaxie aux autres abeilles qui n'ont pas pu consommer le sirop en raison de la compétition pour la source alimentaire dans la cagette. Il est démontré que le phénomène de trophallaxie permet aux abeilles de transférer la concentration de saccharose reçue par les abeilles donneuses à d'autres receveuses (Tezze & Farina, 1999) et probablement le produit toxique contenu dans le sirop. Cela expliquerait pourquoi la toxicité du chlorpyriphos éthyleéthyl est plus importante en ingestion collective qu'en ingestion individuelle. De plus, des études faites sur un Hyménoptère parasitoïde montrent que le chlorpyriphos éthyleéthyl a un effet activateur sur ~~différents~~ des comportements de recherche de l'hôte (Rafalimanana *et al.*, 2002 ; Komez *et al.*, 2001). Il est possible que le comportement de trophallaxie ait été activé suite à l'ingestion de cet insecticide. Ceci contribuerait à une plus forte toxicité du chlorpyriphos éthyleéthyl observée en ingestion collective. L'effet activateur du produit ne s'exercerait pas sur le comportement de consommation de sirop par les abeilles isolées.

A dose forte de diméthoate, l'absence de différence de toxicité entre les deux modes d'ingestion s'explique par le degré de toxicité très élevé dans le sirop. A dose faible de diméthoate, la diminution de la toxicité en ingestion collective contredit le résultat observé avec le chlorpyriphos éthyleéthyl. On ne peut donc pas généraliser la toxicité aiguë de chaque matière active d'un même groupe chimique.

En ingestion individuelle de deltaméthrine, les données obtenues sont hétérogènes, et n'ont pas permis de valider la DL50 du fait de la variabilité de la sensibilité individuelle des abeilles.

En conclusion, bien que pour certaines matières actives, la toxicité dépende du mode d'ingestion : collectif/individuel, la méthode d'ingestion collective est à recommander, car elle est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et tient compte du phénomène de trophallaxie, et permet de ne pas sous-estimer la toxicité des produits. Il faut toutefois signaler qu'en ingestion collective, la quantité de sirop reçue par chaque abeille est variable et non contrôlée, donc l'expression des doses en ng/abeille n'est pas rigoureuse.

3.4. Evaluation du phénomène de trophallaxie dans la distribution d'insecticide en ingestion collective.

3.4.1. Principe

La trophallaxie, un échange de nourriture d'une abeille à une autre (Free, 1956 et 1957), s'effectue entre les membres de la colonie. Moritz (1982) a montré que la distribution du produit était influencée par la quantité d'acaricide (Perizin® : coumaphos) et la saison à laquelle a lieu le traitement. Nous avons évalué le rôle de la trophallaxie dans la distribution d'insecticide dans un lot de 20 abeilles.

Le bleu de méthylène est utilisé comme marqueur permettant de suivre les circuits de distribution d'un produit. Ce colorant a déjà été utilisé comme un moyen pour étudier la distribution d'acaricide pour contrôler le varroa (Van Buren *et al.*, 1993).

3.4.2. Matériel et méthode

* Matériel

Nous avons comparé la deltaméthrine et le chlorpyriphos éthyleéthyl afin de déterminer l'importance du phénomène de trophallaxie dans la répartition du produit parmi les ouvrières. Pour chaque matière active, nous avons comparé deux doses : DL1 et DL50. Ces valeurs sont calculées à partir de WinDL.

(ng/abeille)	DL1	DL50
Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>	45,69 < 64,65 < 79,86	153,08 < 164,05 < 173,43
Deltaméthrine	27,52 < 39,69 < 53,16	493,29 < 529,01 < 564,48

Tableau 19 : Intervalle de confiance des doses de matières actives testées

Le bleu de méthylène, est un produit chimique pur et est fourni par SERLABO. Il est à noter qu'il est non toxique pour les abeilles et peut être métabolisé par l'insecte (Van Buren *et al.*, 1993).

* Préparation des solutions de produits phytopharmaceutiques

On dilue la matière active dans de l'acétone. La concentration en acétone dans le sirop de nourrissage est de 10 %. Quand le sirop contaminé est prêt, on verse le bleu de méthylène (1 mg de bleu de méthylène pour 1 ml de sirop contaminé), et on homogénéise bien la solution obtenue.

*** Dispositif expérimental**

Nous avons utilisé la méthode C.E.B. n°95, par ingestion collective. L'unité expérimentale est la cage de 20 abeilles. Pour mettre en évidence le phénomène de trophallaxie, nous avons comparé l'importance du phénomène de trophallaxie à partir de 5 et 15 abeilles consommant le sirop marqué, constituant les abeilles donneuses, dans le groupe de 20 abeilles par cagette. On prélève ensuite le tube digestif de toutes les abeilles, 24 heures après ingestion du produit. Nous avons répété trois fois chaque essai caractérisé par la nature et la dose de l'insecticide testé.

*** Mode d'administration**

Avant le traitement, les abeilles sont soumises à un jeûne de 2 heures à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et à l'obscurité.

Pendant le test, les abeilles sont placées à la clarté à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pour constituer les abeilles donneuses, on sépare les 5 ou les 15 abeilles et on les met dans une autre cagette où elles peuvent ingérer du sirop marqué (solution de saccharose à la concentration de 500 g/l). La quantité de sirop est calculée pour que les abeilles consomment en moyenne 10 μl de sirop marqué contaminé. Les abeilles restantes ont accès à du sirop contaminé non marqué, à raison de 10 μl en moyenne par abeille. Nous avons marqué par une peinture sur le thorax les 5 ou 15 abeilles donneuses. Quand le sirop marqué est consommé en totalité, les abeilles donneuses sont réintroduites dans leur cagette d'origine. Les abeilles sont ensuite alimentées *ad libitum*, avec du sirop de saccharose non-contaminé.

Les cagettes d'élevage sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée à $25 \pm 2^\circ\text{C}$; à une humidité relative de 50 à 70% avant et après le test.

*** Observation des organes internes de l'abdomen**

La méthode utilisée est celle préconisée par [Jean- Prost](#) (1987). Les abeilles survivantes sont décapitées. On saisit d'une part, à la pince souple, le thorax et d'autre part, à la pince fine, le dernier anneau de l'abdomen. On tire lentement, l'abdomen se déchire et la pince fine entraîne les organes internes.

Pour les abeilles mourantes, on réalise une dissection de l'abdomen sur une plaque en polystyrène sous la loupe. On observe le changement de couleur du tube digestif.

Les intestins se colorent en bleu et le rectum en vert ou bleu quand l'abeille a ingéré le bleu de méthylène.

*** Analyse statistique**

Nous n'avons pas pu exploiter statistiquement les données obtenues avec les groupes de 5 donneuses du fait de la présence pour chaque dose, de groupes qui n'ingèrent pas le sirop marqué au bleu de méthylène. Nous avons principalement analysé le cas d'ouvrières nourries par les 15 donneuses. Nous avons analysé l'effet dose de matière active sur le pourcentage d'abeilles recevant le sirop marqué et l'importance du phénomène de trophallaxie par le test de Kruskal-Wallis.

3.4.3. Résultats

*** Ingestion de sirop marqué par le groupe d'abeilles donneuses**

Lors de l'extraction du tube digestif, on note plusieurs degrés de présence de bleu de méthylène tels que : des abeilles présentant seulement des intestins colorés en bleu ciel, d'autres des intestins colorés en bleu ciel et rectums colorés en vert. La quantité ingérée par abeille varie mais une quantification exacte est difficile à réaliser.

Figure 45 : Effets du chlorpyrifos éthyleéthyl et de la deltaméthrine sur la proportion d'abeilles donneuses ayant ingéré le sirop marqué et contaminé (nombre d'abeilles donneuses = 45 ; Barre d'erreur-type ; ns : $p > 0,05$)

On a remarqué parmi les abeilles considérées comme donneuses quelques abeilles qui n'ont pas ingéré de sirop marqué et ne présentant pas le tube digestif coloré. Mais, il n'y a pas d'effet de la deltaméthrine (K.W.= 1,207 ; $p = 0,547$) et du chlorpyrifos éthyleéthyl (K.W.= 0,800 ; $p = 0,670$) sur la fréquence de ces abeilles (Figure 45).

*** Importance de la trophallaxie dans la distribution du sirop contaminé**

Mis à part le cas de la DL 50 de la deltaméthrine, le pourcentage d'abeilles recevant le sirop marqué varie entre 40 et 50 % environ, indiquant que le phénomène de trophallaxie n'assure pas la distribution homogène de pesticide à tous les membres du groupe testé (Figure 46). Les matières actives testées n'ont pas les mêmes effets sur le phénomène de trophallaxie. La DL50 de deltaméthrine empêche la distribution du sirop entre les membres de la colonie (K.W.= 6,33 ; $p = 0,042$). Alors que les abeilles recevant les différentes doses de

chlorpyrifos éthyleéthyl n'ont pas montré une différence significative dans le phénomène de trophallaxie (K.W.= 5,56 ; p= 0,062) (Figures 46).

Figure 46 : Effets du chlorpyrifos éthyleéthyl et de la deltaméthrine dans le phénomène de trophallaxie (nombre d'abeilles receveuses = 15 ; barre d'erreur-type ; ns : p> 0,05)

3.4.4. Discussion

La variabilité du nombre d'abeilles donneuses qui ingèrent le sirop marqué s'explique par la compétition au sein de l'unité expérimentale de 20 abeilles par cagette. La compétition pour la prise de sirop est déjà évoquée par Stevenson (1978) avec la deltaméthrine.

Pour les 15 abeilles, soit 75 % de donneuses dans un groupe de 20 abeilles, la DL50 de deltaméthrine diminue le phénomène de trophallaxie. Par contre, la DL1 de deltaméthrine et les deux doses de chlorpyrifos éthyleéthyl testées ne provoquent pas cet effet.

La diminution du phénomène de trophallaxie chez les abeilles ingérant la DL50 de deltaméthrine peut s'expliquer par une paralysie (Mestres & Mestres, 1992 ; Worthing, 1979) suite à une ingestion de produit toxique. La DL50 de deltaméthrine empêche ainsi la régurgitation du sirop contaminé du jabot de la donneuse vers le proboscis de la réceptrice. On n'a pas observé cet effet avec le chlorpyrifos éthyleéthyl.

Van Buren *et al.*, (1993) ont montré que la trophallaxie est de faible importance pour obtenir une distribution uniforme de Perizin (matière active : coumaphos), un acaricide systémique, dans une colonie d'abeilles étudiée au champ. Ils ont constaté que le phénomène de trophallaxie n'est pas suffisant pour avoir 95 % d'efficacité pour tuer les acariens.

Notre étude montre que la trophallaxie n'assure pas une homogénéisation de la quantité reçue par abeille ce qui confirme aussi les observations de Moritz (1982). Il y a toujours des abeilles qui ont pu échapper au traitement en ingestion collective.

4. Conclusion du deuxième chapitre

Lors de l'étude de la toxicité aiguë, l'établissement des courbes doses-réponse chez *A. erwi*, exposé par contact résiduel sur verre, n'a pas posé de problème particulier. L'étude sur abeille montre que les insecticides sont plus toxiques par contact que par ingestion. Comme les parasitoïdes se nourrissent de nectars et miellat, ils peuvent aussi être contaminés par ingestion et il serait donc intéressant de déterminer la toxicité par ingestion et par contact de ces insectes.

Chez l'abeille, l'étude de la toxicité aiguë a montré une variabilité des valeurs de DL50 en ingestion par rapport à la littérature. Ce qui nous amène à réaliser une analyse méthodologique.

Le test de toxicité aiguë chez *A. erwi* et *A. mellifera* montre que le chlorpyrifos éthyleéthyl est le plus toxique, la toxicité de la lambda cyhalothrine ne diffère pas de celle de la deltaméthrine. Le pyrimicarbe est l'insecticide le moins toxique chez-pour le parasitoïde.

Chez les abeilles, les valeurs de DL50 par ingestion de deltaméthrine varient d'une année à l'autre ; différents auteurs ont aussi évoqué ce problème de variabilité. La comparaison de deux modes d'ingestion nous a montré que les insecticides ingérés par les abeilles ne se comportent pas de la même manière en fonction du mode d'ingestion et de la matière active. Le chlorpyrifos éthyleéthyl et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique en ingestion collective qu'en ingestion individuelle. Le diméthoate à dose forte et la deltaméthrine n'entraînent pas une différence de toxicité en ingestions collective et individuelle.

En analysant le phénomène de trophallaxie lors de l'ingestion collective de sirop contaminé, nous avons remarqué que la distribution de produit ne s'effectue pas de façon homogène sur l'ensemble du groupe de 20 abeilles. La trophallaxie apparaît peu importante dans la distribution des matières actives. Il y a toujours quelques abeilles qui ont pu échapper au traitement en ingestion collective du fait de la compétition alimentaire.

La valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille n'est pas rigoureuse. Mais, on peut dire que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits.

La DL50 permet de classer l'efficacité des matières actives, mais on ne connaît pas les effets sur les insectes survivants. Ainsi, l'utilisation de la DL50 comme critère principal pour déterminer le niveau de toxicité d'un produit phytosanitaire sur les insectes apparaît insuffisante, c'est pourquoi nous avons recherché les effets sublétaux de certains produits sur le comportement des insectes auxiliaires étudiés.

Figure 39 : Dispositif expérimental de l'ingestion collective de matière active

Figure 40 : Dispositif expérimental de l'ingestion individuelle de matière active

Chapitre 3 : Effets comportementaux d'insecticides chez *A. ervi* et *A. mellifera*

Chez les parasitoïdes, la reconnaissance spontanée d'odeurs caractéristiques de l'insecte hôte et de la plante constitue un des facteurs clés dans l'efficacité parasitaire. Différents stimulus sont utilisés par les parasitoïdes pour détecter et localiser leurs hôtes. Les odeurs de l'habitat de l'hôte permettent l'orientation à distance ; les odeurs émises par l'hôte lui même, moins volatiles et peu abondantes, agissent à des distances beaucoup plus courtes une fois que l'habitat potentiel de l'hôte a été localisé, et déclenchent un comportement exploratoire (Vinson, 1998).

Pendant toute la durée de vie des abeilles, elles sont exposées à des signaux olfactifs divers. La communication chimique joue un rôle primordial pour la communication sociale, le repérage du nid et la découverte de sources alimentaires. La reconnaissance des signaux chimiques joue un rôle important dans la survie des abeilles. Les phéromones produites par la reine, les ouvrières, les mâles et le couvain jouent un rôle dans l'accouplement, l'alarme, la défense, l'orientation, la reconnaissance de la colonie et l'organisation des activités au sein de la colonies (Winston, 1987).

Plusieurs facteurs peuvent modifier la sensibilité olfactive des insectes vis-à-vis des odeurs qui leurs sont familières. Chez les parasitoïdes, les immatures peuvent porter des traces chimiques de l'hôte jusqu'au stade adulte, ce qui peut affecter la sensibilité de l'insecte vis-à-vis de ces odeurs (Corbet, 1985). De même chez l'abeille, une modification de l'environnement olfactif au cours d'une période définie comme sensible sur le plan neurophysiologique et neuroanatomique affecte significativement le comportement des ouvrières vis-à-vis de signal odorant (Pham-Delègue *et al.*, 1990 a, b). Les abeilles adultes s'avèrent aussi capables de modifier certains comportements sous l'effet d'une familiarisation préalable à une stimulation chimique. Cette aptitude est impliquée soit dans les choix alimentaires après exposition à des odeurs florales (Kunze, 1933), soit dans la discrimination d'individus étrangers à la ruche après exposition aux phéromones de la colonie (Butler & Free, 1952). On sait aussi que la réponse comportementale des ouvrières vis-à-vis de la phéromone royale est fluctuante en fonction de leur âge (Pham-Delègue *et al.*, 1982).

Des études ont montré que les insecticides neurotoxiques peuvent entraîner des changements de réponses olfactives chez les insectes. Chez les parasitoïdes, la DL0,1 de lambda cyhalothrine modifie le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi* en olfactomètre (Desneux *et al.*, 2000) ; la DL 0,1 et la DL20 de chlorpyrifos éthyleéthyl perturbent la communication phéromonale chez des trichogrammes mâles et femelles (Delpuech *et al.*, 1998 a, b). Les abeilles survivant à des doses sublétales de perméthrine, ont une difficulté à percevoir ou à répondre à des composés phéromonaux et leur capacité d'apprentissage diminue (Mamood & Waller, 1990). Notons qu'aucune étude des effets sublétaux d'insecticides n'a été faite sur le comportement d'orientation olfactive en olfactomètre chez les abeilles.

Dans ce travail, nous avons analysé les effets d'insecticides sur un comportement général aux insectes, l'orientation olfactive, mis en jeu dans la recherche de l'hôte chez *A. ervi* et dans la recherche de l'entrée de la colonie ou dans la reconnaissance de la reine chez l'abeille.

Les réponses d'orientation sont enregistrées dans un olfactomètre à quatre voies. C'est un dispositif permettant de quantifier le comportement exploratoire d'un animal de petite taille vis-à-vis d'une source odorante. Selon sa taille, il peut être utilisé pour différents insectes comme les pucerons (Petterson, 1970), des parasitoïdes (Vet *et al.*, 1983) les abeilles (Pham-Delègue *et al.*, 1990a). Il prend en compte la variabilité inter-individuelle des réponses (Petterson, 1970 ; Vet *et al.*, 1983). L'insecte s'y déplace en marchant.

1. Olfactomètre à quatre voies

1.1. Dispositif

L'olfactomètre a une chambre intérieure en étoile à 4 branches : 12 cm de côté et 1 cm de hauteur pour le parasitoïde et de 21,5 cm de côté et 1,5 cm de hauteur pour les abeilles. Quatre flux d'air comprimé de même débit sont insufflés par chaque branche et extraits au centre grâce à une pompe aspirante. Ils délimitent quatre champs distincts dans l'olfactomètre, et ne se mélangent que dans la zone centrale. Une seule voie de l'olfactomètre diffuse l'odeur (Figure 47).

On fixe le débit d'air à 200 ml/mn et par branche, valeur adaptée aux parasitoïdes de pucerons (Desneux *et al.*, 2000) d'après les expériences réalisées sur un parasite de

Drosophile, *Leptopilina bouvardi* (De Jong & Kaiser, 1991). Chez l'abeille on fixe le débit d'air à 150 ml/mn (Pham-Delègue *et al.*, 1990 a).

Pour les parasitoïdes, l'olfactomètre est posé sur une table lumineuse diffusant de façon homogène une lumière triphasée d'environ 800 lux (Couty *et al.*, 1999). Pour les abeilles, l'olfactomètre est placé sur la table lumineuse couverte d'un filtre fournissant une lumière rouge homogène (160 lux) invisible aux abeilles (Pham-Delègue *et al.*, 1990 a). On simule ainsi les conditions présentes à l'intérieur d'une ruche.

On réalise les expériences dans une pièce obscure, à la température ambiante de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de 70 %.

On introduit l'insecte dans la zone centrale de la chambre d'observation. Une caméra vidéo reliée à un écran de contrôle, placée au-dessus de l'olfactomètre permet de suivre les déplacements des insectes et on les enregistre sur un micro ordinateur équipé du logiciel "The Observer" (Noldus Information Technology, Pays-bas). Chaque observation dure une minute pour *A. ervi* et 5 minutes pour les abeilles.

Figure 47 : Olfactomètre à quatre voies (Sandoz, 1998)

1.2. Paramètres quantifiés et méthode d'analyse

On enregistre le temps passé dans chaque zone pour les parasitoïdes et le temps passé et la fréquence de changement de zone pour les abeilles. Pour chaque situation expérimentale, le test de Friedman (Analyse de variance sur les rangs) compare la distribution des données dans les quatre champs à une distribution aléatoire. Un test de comparaison multiple sur les rangs permet de classer les valeurs obtenues dans les champs (Sprent, 1992). Comme notre objectif consiste à évaluer les effets des différentes doses de matières actives sur le temps passé dans le champ odorant, nous avons comparé les durées d'exploration du champ odorant après les différents traitements, par un test de Kruskal-Wallis (Test non paramétrique sur les rangs).

2. Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi*

2.1. Principe

Cette étude vise à rechercher les effets de concentrations croissantes d'insecticide sur le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi* vis-à-vis de l'odeur de colza infesté de pucerons. Cette partie est réalisée en collaboration avec N. Desneux.

2.2. Matériel

2.2.1. Insectes

On teste les individus survivants à l'issue de 24 heures d'exposition par contact tarsal avec les différentes doses utilisées lors de la détermination de DL50. Pour homogénéiser les conditions expérimentales, on alterne les insectes exposés aux différentes doses. Un aspirateur buccal d'entomologiste permet de récupérer les insectes testés.

2.2.2. Source d'odeur

La source d'odeur provient d'un plant de colza infesté de *M. persicae* depuis environ 7 jours (400 à 500 pucerons au total répartis sur 7 à 8 feuilles). Ce plant est placé dans un bocal à couvercle hermétique (verre rodé). La tige coupée plonge dans un flacon d'eau. Insufflé par la partie supérieure et aspiré dans la zone inférieure, l'air balaye tout le plant infesté (Figure 48). Le plant de colza infesté de pucerons attire de façon significative la femelle de *A. ervi* non traitée, ce qui correspond à un des comportements mis en jeu dans l'infestation de l'hôte (Desneux *et al.*, 2000). En conditions naturelles, les parasitoïdes utilisent ainsi l'odeur de la plante infestée pour localiser les pucerons hôtes (Guerrierri *et al.*, 1999).

Les plants de colza sont produits par le service des serres de l'INRA de Versailles (Monsieur Martin Canadel). La souche de *M. persicae* provient du laboratoire de Monsieur Robert Delorme, Unité de Phytopharmacie, INRA de Versailles. Le colza est mis en pots dans une cage. On arrose chaque fois que le plant en a besoin. La souche de *M. persicae* est résistante aux insecticides utilisés. On élève les pucerons au laboratoire sur des plants de fèves disposés dans des beurriers (20 x 10 x 6 cm), dans une cage de tulle (70 x 40 x 50 cm). On a choisi d'élever les pucerons sur les fèves car on peut les cultiver facilement en laboratoire. On règle les conditions d'élevage de pucerons à une température de $20 \pm 1^\circ\text{C}$ et une photopériode 18h : 6h (Desneux *et al.*, 2000).

Figure 48 : Source d'odeur utilisée pour étudier le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi* (Desneux, INRA)

2.3. Résultats

Le colza infesté de pucerons attire de façon significative les femelles naïves de *A. ervi*. Les femelles ayant survécu à l'exposition aux doses croissantes de chlorpyriphos éthyleéthyl, de deltaméthrine, de lambda cyhalothrine et de pyrimicarbe restent très attirées par cette odeur (Figures 49 à 52 et Tableau 20) sauf à une dose DL20 de deltaméthrine, où l'attraction, amoindrie n'est plus significative (Figure 51) alors que les doses inférieures ou supérieures n'ont pas d'effet. Le test de Kruskal-Wallis montre qu'il n'y a aucun effet dose d'insecticides sur le temps passé dans la zone odorante même pour la deltaméthrine (Tableau 20).

Figure 49 : Effets du chlorpyriphos éthyleéthyl sur le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi* (Barres d'erreur type ; test de Friedman : * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; n : individus testés)

Figure 50 : Effets du pyrimicarbe sur le comportement d'orientation de *A. ervi* (Barres d'erreur type ; test de Friedman : * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; n : individus testés)

Lors du test en olfactomètre, on n'a pas différencié sur le plan comportemental les individus apparemment normaux et les individus qui plient leur abdomen suite à l'exposition au chlorpyriphos éthyleéthyl.

Figure 51 : Effets de la lambda cyhalothrine sur le comportement d'orientation de *A.ervi* (Barres d'erreur type ; test de Friedman : ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; n : individus testés)

Figure 52 : Effets de la deltaméthrine sur le comportement d'orientation de *A. ervi* (Barres d'erreur type ; test de Friedman : ns : $p > 0,05$; *** : $p < 0,001$; n : individus testés)

Chlorpyriphos <u>éthyleéthyl</u>						Pyrimicarbe					
Doses (ng/cm ²)	Pour les 4 champs		Pour champ odorant			Doses (ng/cm ²)	Pour les 4 champs		Pour champ odorant		
	χ^2	p	% durée (s)	KW	P		χ^2	p	% durée (s)	KW	P
Témoin	12,94	0,0048	50,32			Témoin	17,77	0,0005	50,60		

0,22	19,78	0,0002	49,18	7,22	0,205	25,53	14,40	0,0024	44,50	1,61	0,900
0,27	9,822	0,0201	42,37			31,76	10,18	0,0171	36,40		
0,34	32,98	<0,0001	61,07			39,78	12,74	0,0052	44,57		
0,43	31,67	<0,0001	55,35			49,87	12,28	0,0065	41,47		
0,54	18,17	0,0004	47,88			62,34	14,27	0,0026	45,00		
Deltaméthrine						Lambda cyhalothrine					
Doses (ng/cm ²)	Pour les 4 champs		Pour champ odorant			Doses (ng/cm ²)	Pour les 4 champs		Pour champ odorant		
	χ^2	p	% durée (s)	KW	P		χ^2	p	% durée (s)	KW	P
Témoin	20,75	<0,001	46,93	2,68	0,612	Témoin	28,87	<0,001	56,45	3,94	0,559
0,294	19,02	<0,001	53,42			0,29	15,43	0,0015	46,50		
0,585	21,91	<0,001	50,93			0,59	18,09	<0,001	51,33		
1,173	5,96	0,114	41,20			1,17	28,20	<0,001	52,83		
2,34	27,66	0,001	52,65			2,34	47,43	<0,001	61,67		
						4,69	36,74	<0,001	60,17		

Tableau 20 : Analyse statistique d'effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive de *A. ervi* (χ^2 : test de Friedman ; KW : test de Kruskal- Wallis ; p= probabilité)

2.4. Discussion

L'efficacité parasitaire repose essentiellement sur la capacité des parasitoïdes à repérer facilement leur hôte. La capacité d'interpréter l'odeur émise par la plante hôte infestée diminue le temps alloué dans la recherche de l'hôte et intervient dans l'efficacité parasitaire. Nous avons montré que les traitements d'*A. ervi* avec le chlorpyrifos éthyleéthyl, le pyrimicarbe et la lambda cyhalothrine, quelles que soient les doses reçues, même à des doses entraînant plus de 60 % de mortalité, ne perturbent pas la perception spontanée de l'odeur du colza infesté par *M. persicae*. Dans les conditions d'observation, la capacité des parasitoïdes à utiliser les informations perçues reste identique entre les lots traités et témoin.

Cependant une étude antérieure a montré que la DL 0,1 de lambda cyhalothrine réduisait la perception de cette même odeur par *A. ervi* (Desneux *et al.*, 2000). Nous n'avons pas retrouvé cet effet avec les doses sublétales ~~avec les doses sublétales~~ que nous avons testées, peut être parce que nous avons utilisé une autre souche d'*A. ervi*.

Une étude a aussi montré que la réponse des femelles du parasitoïde *Trissolcus basalis* (Hyménoptère- Scelionidae) traitées à la DL25 de deltaméthrine diminue la réponse à une kairomone produite par *Nezara viridula* L. (Hétéroptère- Pentatomidae) (Salerno *et al.*, 2002). Mais cette étude ne donne pas de résultats sur les effets d'autres doses. Komezza *et al.*, (2001) ont déterminé les effets d'une DL 20 du chlorpyrifos éthyleéthyl sur le comportement exploratoire que provoquent les kairomones de drosophiles sur le parasitoïde *L. bouhardi*. Le suivi du comportement de femelles parasitoïdes dans une enceinte de 5 cm de diamètre pour

choisir une pastille de gélose de 1 cm de diamètre marqué par les kairomones ou une pastille témoin non marquée, a aussi montré que les kairomones de drosophiles sont très attractives pour les parasitoïdes exposées à l'insecticide ou non. Cependant, les femelles parasitoïdes survivant à l'insecticide ne présentent pas la même cinétique de réponse que les femelles témoins. Les femelles témoins passent tout d'abord beaucoup de temps sur le patch de kairomones puis s'en désintéressent rapidement et explorent la totalité de l'enceinte. Ce type de comportement correspond à une habituation à la source d'odeur définie comme une diminution de la réponse à un stimulus quand il est présenté de façon répétée ou prolongée, sans événement associé (Dudai, 1989).

Par contre, les femelles exposées à l'insecticide mettent plus de temps à trouver le patch de kairomones dans un premier temps, mais elles ont ensuite tendance à rester sur ce patch jusqu'à la fin des huit minutes d'observation. Dans notre étude, nous aurions peut être pu mettre en évidence un effet du chlorpyrifos [éthyleéthyl](#) sur l'habituation à l'odeur en augmentant la durée de l'observation. En effet, Desneux *et al.* (2000) avaient montré que les femelles d'*A. ervi* non traitées cessent de répondre à l'odeur de colza infesté au bout de 3 minutes d'observation, et que les femelles continuent à répondre pendant au moins 5 minutes si elles ont eu une expérience de ponte avant le test. Nous avons donc pensé que 5 minutes d'observation permettraient de mettre en évidence un effet d'insecticide sur l'habituation.

On peut aussi penser que l'insecticide neurotoxique agit au niveau d'autres types de comportements des parasitoïdes : l'activité de ponte s'est avérée significativement réduite chez les femelles d'*A. ervi* ayant survécu à une DL 20 de lambda cyhalothrine, mais pas chez les femelles exposées à une DL 0,1 (Desneux *et al.*, 2000). Au contraire, la DL20 de chlorpyrifos [éthyleéthyl](#) stimule l'activité de ponte chez *L. heterotoma*, parasitoïde de Drosophiles (Rafalimanana *et al.*, 2002). En effet, *L. heterotoma* localise les larves de drosophile en sondant le milieu avec son ovipositeur. Ce comportement de sondage peut être déclenché par la simple perception de l'odeur du milieu de développement de larves hôtes. Le chlorpyrifos [éthyleéthyl](#) provoque une augmentation significative du pourcentage de femelles sondant spontanément le milieu en réponse à l'odeur seule de banane. Il peut également perturber la communication intra-spécifique par la phéromone, comme cela a été montré chez des trichogrammes mâles et femelles exposés à une DL 0,1 (Delpuech *et al.*, 1998 a) et à une DL 20 (Delpuech *et al.*, 1998 b).

Les tests d'orientation sont réalisés sur les insectes survivant aux doses utilisées pour déterminer les courbes de mortalité, afin de gagner du temps. Toutefois, cela aurait été plus aisé d'étudier l'effet d'insecticide sur le comportement d'orientation d'insectes à partir des doses fixées et établies sur les droites de mortalité (ex : DL20). Ce sera fait pour les expérimentations sur abeille.

3. Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive chez les abeilles domestiques

3.1. Mise au point du test de comportement d'orientation olfactive

Il s'agit d'abord de tester différentes sources d'odeurs utilisées par les ouvrières âgées et les jeunes abeilles, pour choisir le type d'abeille et la source d'odeur pour lesquels le phénomène d'attraction est net, afin de mettre en évidence un éventuel effet d'insecticide sur cette réponse d'attraction

3.1.1. Matériel et méthodes

*** Abeilles**

On teste trois groupes d'abeilles d'âge indéterminé, qui ne présentent pas de symptômes pathologiques et qui ne sont pas traitées avec des acaricides. Nous avons testé des abeilles d'été. Les ouvrières testées proviennent d'une reine [(*Ligustica x mellifera x mellifera*) x *mellifera*]. Les trois groupes expérimentaux sont les suivants :

- des ouvrières d'âges indéterminés, prélevées sur les cadres de miel et de pollen de ruches,
- des butineuses qui sont des abeilles prélevées sur le plancher d'entrée de la ruche, au retour de vol de butinage (repérées grâce aux pelotes de pollen dont elles sont chargées),
- des jeunes abeilles qui sont prélevées sur le cadre de couvain où il y a des larves non operculées.

On prélève les 20 abeilles par cagette d'élevage la veille du test. Elles sont placées dans des cages de contention (10 x 8,5 x 6 cm) et à l'obscurité dans une enceinte climatisée à $25 \pm 2^\circ\text{C}$; HR 50-70 %. Pendant toute la durée du test, les abeilles sont alimentées *ad libitum* avec du sirop de saccharose à la concentration finale de 500g/l.

*** Source d'odeur**

On a testé deux types d'odeurs : la phéromone royale et l'odeur de congénères.

Pour la phéromone royale, on utilise un mélange synthétique, constitué de cinq composés dans les proportions suivantes dans un équivalent reine (Eq) : 150 µg d'acide (E)-9-oxo-2-décénoïque (9-ODA), 55 µg d'acide (E)-9-hydroxy-2-décénoïque (9-HDA) sous la

forme de deux isomères optiques (71 % R(-) et 29 % S(+)), 13 µg de 4-hydroxy-benzoate de méthyleéthyle (HMB) et 1,5 µg de 2-(4-hydroxy-3-méthoxy-phenyl)-éthanol (HMPE). Ces proportions sont celles trouvées dans les glandes mandibulaires de reines fécondées (Slessor *et al.*, 1988). On obtient le mélange en solubilisant 22 mg du mélange brut (9-ODA : 68 % , 9-HDA : 25 % , HMB : 6 % , HMPE : 1 %) dans 50 ml de dichlorométhane, soit une concentration d'1 Eq pour 500 µl, comme pour le mélange naturel. Phero Tech Inc Company a fourni la phéromone royale que nous avons utilisée.

Pham-Delègue *et al.*, (1991 a) ont défini les conditions optimales d'utilisation de l'extrait : On dépose la phéromone royale sur un morceau de papier filtre (touche à parfum de 3 x 40 mm) ventilé pendant 5 minutes pour évaporer le dichlorométhane, et placé dans une fiole à barboter connectée au niveau d'un angle de l'olfactomètre par un tuyau souple. Une dose d'un équivalent reine (soit 500 µl d'extrait) est utilisée. Ce stimulus est renouvelé toutes les 4 abeilles testées (Trouiller, 1993).

Concernant la source d'odeur des congénères, on place une cagette contenant 40 abeilles, dans une boîte (11,2 x 17,5 x 13 cm avec une entrée et une sortie d'aire) comme source olfactive

Après chaque changement d'individu testé, la chambre d'observation est nettoyée à l'éthanol afin d'éviter l'effet des éventuels marquages chimiques laissés par les individus précédents, et la position de la source d'odeur est déplacée d'un quart de tour par rapport à la pièce pour éviter tout repérage autre qu'olfactif.

3.1.2. Résultats de l'analyse du comportement d'orientation chez l'abeille

Les jeunes abeilles passent 31,01 % du temps dans le flux de phéromone royale ($\chi^2= 8,980$; $p= 0,030$; $ddl= 3$) et les butineuses, 29,5% ($\chi^2= 7,165$; $p= 0,067$; $ddl= 3$). Bien que ces durées soient peu différentes, la phéromone royale attire de façon plus significative les jeunes abeilles que les butineuses (Figure 53).

L'odeur des congénères n'exerce pas un effet attractif marqué sur les jeunes abeilles et les butineuses, qui passent une durée de temps assez courte dans le champ odorant (respectivement 32,51 et 22,62 % de temps) (respectivement $\chi^2= 2,483$; $p= 0,478$; $ddl= 3$ et $\chi^2= 3,321$; $p= 0,345$; $ddl= 3$). Par contre les abeilles indéterminées restent plus de temps dans le champ odorant (40,98 % du temps ; $F= 43,09$; $p< 0,0001$; $ddl= 3$), ce qui correspond à une attraction très significative (Figure 54).

Figure 53 : Comportement d'orientation olfactive de *A. mellifera* vis-à-vis de la phéromone royale (Durées moyennes dans les quatre champs et barre d'erreur type ; Friedman : * : $p < 0,05$; NS : $p > 0,05$; durée du test : 300 s ; n= nombre d'abeilles testées)

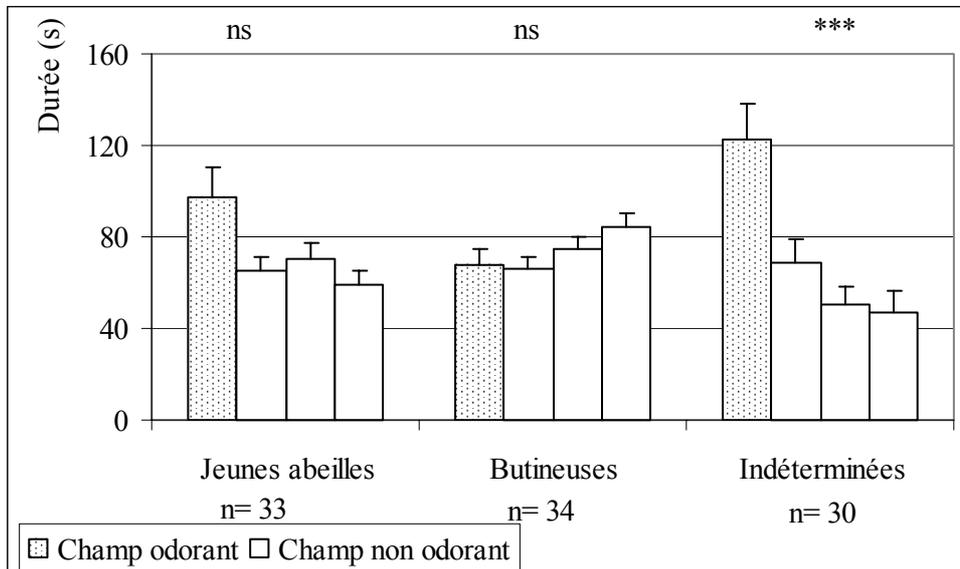


Figure 54 : Comportement d'orientation olfactive de *A. mellifera* vis-à-vis de l'odeur de congénères (Durées moyennes dans les quatre champs ; barre d'erreur-type ; Friedman : NS : $p > 0,05$; *** : $p < 0,001$; durée de test : 300 s ; n : abeilles testées)

3.1.3. Discussion

Dans cette étude nous avons observé que l'abeille a une capacité à identifier différents signaux phéromonaux et à produire un comportement d'attraction en olfactomètre. Les résultats du comportement d'orientation olfactive des trois types d'abeilles s'interprètent par rapport à leur activité au sein d'une ruche.

La phéromone royale attire les jeunes abeilles (Sakagami, 1953 ; Seeley, 1982), ce qui assure le déroulement du comportement de cour : les jeunes ouvrières de moins d'une semaine viennent lécher et palper avec leurs antennes le corps de la reine et présenter de la nourriture (Pain, 1954 ; Slessor *et al.*, 1988). Ce comportement a été étudié aussi bien en colonie (Simpson, 1979 ; Gary, 1962) qu'en cagettes (Pham-Delègue *et al.*, 1982 ; Kaminski *et al.*, 1990 ; Bakchine-Huber, 1994).

Ni l'odeur de leurs congénères ni la phéromone royale n'attirent les butineuses. Généralement, la phéromone royale permet aux ouvrières de reconnaître la reine (Boch & Morse, 1974), mais dans les conditions de l'olfactomètre, les butineuses ne répondent pas à ce signal. L'absence de réponse peut s'expliquer par la distribution des tâches en fonction de l'âge chez les d'abeilles. Les ouvrières les plus âgées assurent particulièrement l'activité de butinage et sont plutôt attirées par des odeurs florales (Pham-Delègue, 1990 a, b).

L'expérience avec la cagette de congénères nous a permis d'obtenir une attraction marquée. Les ouvrières indéterminées reconnaissent l'odeur de leurs congénères, qui peut agir comme un signal assurant la cohésion d'une colonie (Kriston, 1973). Ceci tend à démontrer qu'à faible distance, comme lors d'un retour à la ruche ou d'un essaimage, l'odeur de la colonie est un indice pertinent pour s'orienter.

Compte tenu de ces résultats, dans la suite des expérimentations, l'analyse des effets d'insecticides sur le comportement d'orientation sera réalisée sur les abeilles d'âges indéterminées répondant à l'odeur de leurs congénères, la réponse étant la plus élevée. Cette situation nous a paru favorable pour mettre en évidence l'effet délétère éventuel d'un traitement insecticide.

Les doses testées seront une dose sublétales DL1, une dose faible DL20 et une dose forte DL50. On étudie les effets éventuels du traitement de deux matières actives : la deltaméthrine et le chlorpyrifos éthyle.

3.2. Effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive d'*A. mellifera*.

3.2.1. Principe

Il s'agit de rechercher les effets des trois doses (DL1, DL20 et DL50) de deltaméthrine et de chlorpyriphos éthyle sur le comportement d'orientation olfactive d'*A. mellifera* vis-à-vis de l'odeur de congénères.

3.2.2. Méthode

On teste les abeilles d'âge indéterminé (prélevées sur les cadres de réserves dans une ruche) survivant à l'issue de 24 heures d'ingestion collective de sirop contaminé par les matières actives testées. Pour homogénéiser les conditions expérimentales, on alterne les tests sur les insectes traités aux différentes doses de matières actives.

* Mode de traitement

Pour les traitements, on utilise l'ingestion collective d'après la méthode C.E.B n°95 (concentration en acétone dans le sirop : 10 % ; unité expérimentale : la cagette de 20 abeilles ; jeûne de 2 heures avant le traitement ; quantité reçue par abeille : 10 µl).

Les doses de matières actives testées sont :

(ng/abeille)	DL1	DL20	DL50
Chlorpyriphos éthyle	45,69 < 64,65 < 79,86	100,01 < 117,14 < 129,51	153,08 < 164,05 < 173,43
Deltaméthrine	27,52 < 39,69 < 53,16	176,63 < 207,35 < 236,23	493,29 < 529,01 < 564,48

On enregistre les mortalités 24 heures après ingestion de sirop contaminé.

* Test de comportement

Nous avons utilisé comme dispositif expérimental l'olfactomètre à quatre voies (Cf § 2^{ème} partie- Chap. 3 : 1).

En plus du temps passé dans chaque zone, nous avons analysé les fréquences et les séquences de visites du champ odorant, et le choix, marqué par la pénétration dans une des arrivées d'air. Nous avons utilisé le test de Friedman pour comparer la distribution des données (temps passé et fréquences de visites) dans les quatre champs à une distribution aléatoire. De plus, on compare les temps passés et les fréquences de visites du champ odorant par le test de Kruskal- Wallis.

Nous avons testé en premier le chlorpyriphos éthyle. Lors de l'évaluation du chlorpyriphos éthyle, avec le lot d'abeilles non traitées (abeilles recevant du sirop avec 10 % d'acétone), nous avons constaté que nous n'avons pas obtenu le même niveau de réponse en olfactomètre que lors de la mise au point du test de comportement d'orientation olfactive (Figure 50). Pour l'évaluation des effets de la deltaméthrine, nous avons alors rajouté un témoin supplémentaire recevant du sirop sans acétone.

3.2.3. Résultats

Le comportement d'orientation olfactive d'*A. mellifera* témoin varie entre les différents témoins (Figures 55, 57). Les abeilles du groupe témoin « acétone » se répartissent de façon plus hétérogène entre les quatre champs de l'olfactomètre. Aucun des groupes témoins n'est attiré significativement par l'odeur.

En analysant le comportement des abeilles pour chaque dose, les ouvrières traitées aux DL1 et DL50 de chlorpyriphos éthyle se montrent attirées par l'odeur de leurs congénères, alors que les ouvrières traitées à la DL20 de chlorpyriphos éthyleéthyl et les témoins ne le sont pas. Les ouvrières témoins et traitées avec les trois doses de deltaméthrine ne sont pas attirées par l'odeur de leurs congénères. En comparant les durées de temps passé dans le champ odorant, il n'y a toutefois pas d'effet dose du chlorpyriphos éthyleéthyl, sur le comportement d'orientation olfactive (Tableau 21; Figure 55). Il en est de même pour la deltaméthrine (Tableau 22 ; Figure 57).

Aucune des doses de chlorpyriphos éthyleéthyl n'a d'effet sur la fréquence de visites des quatre champs. De même, les ouvrières traitées à la DL1 de deltaméthrine explorent les quatre champs avec la même fréquence que les ouvrières témoins. Par contre, les ouvrières traitées avec les DL20 et DL50 de deltaméthrine ont des fréquences de visites des quatre champs réduites, ce qui indique une baisse d'activité locomotrice générale, indépendamment de la réponse à l'odeur. En analysant seulement la fréquentation du champ odorant, les DL20 et DL50 de deltaméthrine induisent une fréquence de visites faible par rapport aux témoins et à la DL1 (Tableau 22; Figures 58 et 59). Les différentes doses de chlorpyriphos éthyleéthyl n'entraînent pas cet effet (Tableau 21; Figure 56).

Figure 55 : Effets du chlorpyriphos éthyleéthyl sur les temps passés par les abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères (Barre d'erreur type ; Friedman : *** : $p < 0,001$; * : $p < 0,05$; NS : $p > 0,05$; durée du test : 300 s ; n : nombre d'abeilles testées)

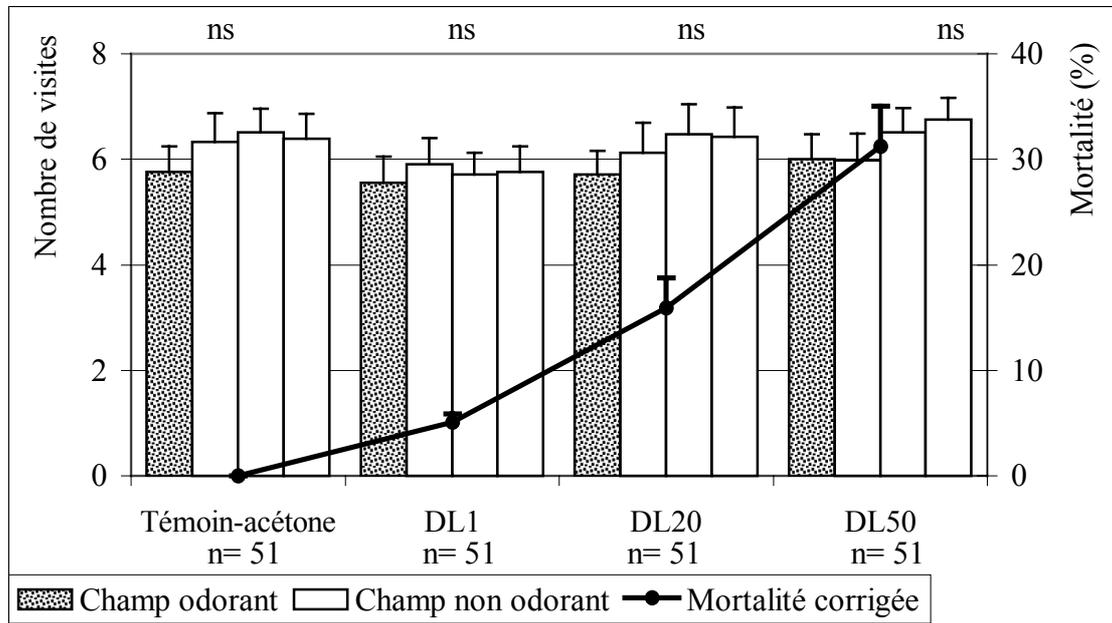


Figure 56 : Effets du chlorpyriphos éthyleéthyl sur les fréquences de visites des abeilles dans les champs, en réponse à l'odeur de leurs congénères (Barre d'erreur type ; Friedman : NS : $p > 0,05$; durée du test : 300 s ; n : nombre d'abeilles testées)

	Fréquence de visites					Durée de visite				
	Pour les 4 champs		Pour le champ odorant			Pour les 4 champs		Pour le champ odorant		
	χ^2	p	% visites	KW	p	χ^2	p	% temps	KW	p
Témoin acétone	3,192	0,363	23,05	0,636	0,888	2,77	0,428	26,81	3,106	0,375
DL1	0,441	0,932	24,21			7,966	0,047	32,09		
DL20	4,706	0,195	23,09			5,00	0,172	30,88		
DL50	4,631	0,201	23,77			17,05	<0,0001	32,30		

Tableau 21 : Analyse statistique des effets du chlorpyrifos éthyleéthyl sur le comportement d'orientation olfactive de *A. mellifera* vis-à-vis de l'odeur de congénères (χ^2 : test de Friedman ; KW : test de Kruskal- Wallis ; p= probabilité)

Figure 57 : Effets de la deltaméthrine sur les temps passés par les abeilles dans les champs en réponse à l'odeur de leurs congénères (Barre d'erreur type ; Friedman : ** : $p < 0,01$; NS : $p > 0,05$; durée du test : 300 s ; n : nombre d'abeilles testées)

Figure 58 : Effets de la deltaméthrine sur les fréquences de visites des abeilles dans les champs, en réponse à l'odeur de leurs congénères (Barre d'erreur type ; Friedman : NS : $p > 0,05$; durée du test : 300 s ; n : nombre d'abeilles testées)

Figure 59 : Effets de la deltaméthrine sur les fréquences de visites des abeilles dans le champ apportant l'odeur de leurs congénères (Barre d'erreur type ; les lettres indiquent les valeurs qui diffèrent au seuil de % par le test de Kruskal-Wallis ; durée du test : 300 s ; n : nombre d'abeilles testées)

	Fréquence de visites					Durée de visite				
	Pour les 4 champs		Pour le champ odorant			Pour les 4 champs		Pour le champ odorant		
	χ^2	p	% visites	KW	p	χ^2	p	% temps	KW	p
Sirop	1,75	0,626	25,70	12,271	0,015	6,032	0,110	30,15	0,282	0,990
Témoin acétone	4,381	0,223	27,11			12,26	0,006	29,37		
DL1	2,799	0,424	25,05			6,408	0,093	28,47		

DL20	1,602	0,659	25,31			6,032	0,110	31,28		
DL50	0,698	0,874	24,62			3,904	0,272	29,83		

Tableau 22 : Analyse statistique des effets de la deltaméthrine sur le comportement d'orientation olfactive de *A. mellifera* vis-à-vis de l'odeur de congénères

3.2.4. Discussion

La variabilité de la réponse des abeilles vis-à-vis de l'odeur de leurs congénères s'explique par le temps écoulé entre le prélèvement et le test en olfactomètre. Plus précisément, cette durée est de 24 heures lors de la mise au point du test de comportement d'orientation olfactive, par contre elle est de 48 heures lors des tests d'évaluation des effets d'insecticides, à cause des 24 heures supplémentaires pour l'exposition insecticide. En effet, le contact continu entre les abeilles et l'échange de nourriture par trophallaxie améliorent la reconnaissance des congénères. Plus longtemps les abeilles sont séparées de leurs congénères, plus elles perdent leur faculté de reconnaître leurs congénères.

Nous avons trouvé que les trois doses de deltaméthrine par rapport aux témoins n'entraînent pas un effet sur le temps passé par les abeilles dans le champ odorant en réponse à l'odeur de leurs congénères. Mais, les DL20 et DL50 de deltaméthrine diminuent la fréquence de visites dans le champ odorant.

~~Nous avons montré chez *A. erwi* que la lambda cyhalothrine, la deltaméthrine, le chlorpyrifos éthyle et le pyrimicarbe ne perturbaient pas ou peu la durée du temps passée dans le champ apportant l'odeur de l'hôte. Comme nous l'avions évoqué, une durée d'observation de 5 minutes au lieu de 1 minute aurait pu permettre de voir un effet de chlorpyrifos éthyle. Les données sur abeilles le suggèrent aussi.~~

~~L'étude des effets sublétaux provoqués par d'autres organophosphorés, le coumaphos et le diazinon sur la capacité d'apprentissage olfactif et de discrimination des abeilles entre différentes odeurs montre que : le coumaphos appliqué sur le thorax inhibe l'apprentissage d'un nouveau stimulus olfactif et le diazinon à faible dose a un effet sur l'apprentissage et la discrimination des odeurs. Lors de l'évaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase de la tête après application topique du produit, seule la dose forte de diazinon montre une diminution de l'activité de l'acétylcholinestérase (Weick & Thorn, 2002). Il n'y a donc pas de lien entre cette activité et l'effet de diazinon sur l'apprentissage olfactif ou sur la discrimination des odeurs. Ceci suggère que les organophosphorés auraient des effets sur l'apprentissage ou la discrimination des odeurs par d'autres mécanismes que l'inhibition de l'acétylcholinestérase.~~

La diminution de la fréquence de visite des quatre champs de l'olfactomètre par les abeilles traitées avec les DL20 et DL50 de deltaméthrine indique une réduction de la faculté locomotrice de l'abeille. Cette réduction de l'activité locomotrice pourrait provenir d'un trouble de la coordination motrice connu comme un effet subléthal des pyréthriinoïdes (Rieth & Levin, 1987). Une étude faite sur l'imidaclopride (néonicotinoïde) montre que les abeilles traitées (5 et 20 ng/abeille 30 minutes après le traitement ; 2,5 et 20 ng/abeille, 60 minutes après traitement) ont au contraire une activité locomotrice accrue. Par contre à faible dose (1,25 ng/abeille) elles s'immobilisent (Lambin *et al.*, 2001). La perturbation de la faculté locomotrice peut affecter l'activité des abeilles au sein d'une colonie. Il est aussi démontré que la DL25 de la deltaméthrine diminue temporairement le déplacement de *Trissolcus basalis* (Hyménoptère- Scelionidae) en réponse à la kairomone émise par la punaise *Nezara viridula* L. (Hétéroptère- Pentatomidae) par rapport au témoin (Salerno *et al.*, 2002). Les femelles de *Microplitis croceipes* (parasitoïde de *Heliothis*) soumises directement au mélange de fenvalérate (Pyrethriinoïde) et chlordimeforme (formamidine) diminuent significativement les activités de vol et de recherche pendant 20 heures après le traitement (Elzen *et al.*, 1989).

Dans nos tests d'orientation olfactive d'*A. ervi*, une étude de la fréquence de changement de champ, nécessitant une observation de plusieurs minutes, aurait pu permettre de voir un effet de la deltaméthrine sur l'activité locomotrice.

Nous mettons en évidence une réponse significative aux congénères chez des abeilles traitées à une DL1 et à une DL 20 de chlorpyrifos éthyle. La DL20 a un effet comparable mais à la limite de la signification avec le test de Friedman, peu puissant, alors que les abeilles témoins ne sont pas attirées. L'augmentation du temps passé dans l'odeur correspond au mode d'action de l'organophosphoré qui prolonge la transmission de l'influx nerveux en inhibant l'acétylcholinestérase au niveau des synapses. De même Komez *et al.* (2001) ont montré que le parasitoïde *L. bouhardi* traités à une DL20 du chlorpyrifos éthyle prolongeait sa présence sur une source d'odeurs de l'hôte.

Nous avons montré chez *A. ervi* que la lambda cyhalothrine, la deltaméthrine, le chlorpyrifos éthyle et le pyrimicarbe ne perturbaient pas ou peu la durée du temps passée dans le champ apportant l'odeur de l'hôte. Comme nous l'avons évoqué, une durée d'observation de 5 minutes au lieu de 1 minute aurait pu permettre de voir un effet de chlorpyrifos éthyle. Les données sur abeilles le suggèrent aussi.

4. Conclusion du troisième chapitre

L'utilisation d'un même dispositif pour caractériser les effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive de l'abeille et du parasitoïde de pucerons fait apparaître les points suivants :

- Les expérimentations conduites sur abeilles et parasitoïdes dans ce travail n'ont pas mis en évidence d'effet dose pour les quatre matières actives testées. Toutefois l'observation des réponses en olfactomètre peut permettre de mettre en évidence et modéliser un effet dose, comme l'indique une expérimentation faite au Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés avec *A. ervi* exposé à des doses croissantes de triazamate (carbamyl-triazole ; Desneux *et al.*, en préparation).

- La mise en évidence d'effets d'insecticides sur la réponse au signal odorant et sur l'activité locomotrice dépend du paramétrage de l'observation et notamment de sa durée, qui doit être suffisante pour pouvoir observer par exemple une prolongation de la réponse olfactive, ou un effet sur la fréquence de changements de champ.

En tant qu'outil pour évaluer des effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive, l'olfactomètre apparaissait intéressant car il permet d'avoir rapidement des réponses individuelles d'orientation olfactive, ce qui n'est pas le cas quand les réponses olfactives des abeilles sont observées en cage de vol. Toutefois des études restent à faire sur abeilles pour avoir une attraction significative chez les individus non traités, et sur les parasitoïdes pour affiner l'analyse statistique ou l'enregistrement des réponses afin de mettre en évidence un effet dose.

Enfin, le test en olfactomètre serait à compléter par d'autres tests dans le cas de certaines matières actives. Les résultats obtenus avec le chlorpyrifos éthyleéthyl montre que des individus dont l'abdomen est bloqué en position de pont se s'orientent normalement. Il est à craindre qu'ils auront des difficultés à voler et à pondre.

Conclusion générale

Du fait de l'intérêt des Hyménoptères en tant qu'insectes auxiliaires en agriculture, l'objectif de ce travail consistait à documenter un certain nombre d'éléments concernant :

- l'importance du risque d'exposition à des insecticides, encourus par les abeilles domestiques et les Hyménoptères parasites, et les effets d'insecticides sur ces insectes auxiliaires, par des études de terrain à Madagascar.

- l'évaluation des effets létaux et sublétaux de quelques insecticides sur l'abeille domestique et le parasitoïde de puceron, *A. ervi*, en conditions de laboratoire, au L.N.C.I., en France.

Les insecticides jouent un rôle important dans la limitation de populations d'insectes ravageurs et dans l'amélioration de la production agricole. Leur utilisation se généralise à Madagascar. La culture de coton et le traitement contre le criquet migrateur consomment une grande quantité de plusieurs matières actives. Le travail d'enquête a mis en évidence que la plupart des agriculteurs ne maîtrisent pas réellement la technique de lutte intégrée en matière d'utilisation d'insecticides. Les problèmes écotoxicologiques ne sont pas pris en compte lors de l'homologation des produits phytosanitaires à Madagascar, malgré des indices d'effets sur les insectes auxiliaires, tels que l'absence de l'action des parasitoïdes dans les champs de cotonniers et les traces d'insecticide dans les échantillons d'abeilles mortes analysées.

Madagascar possède des atouts et des possibilités pour développer l'apiculture. L'existence de débouchés à l'extérieur comme à l'intérieur devrait nous encourager à son exploitation. Le climat et la flore existant à Madagascar, ainsi que l'absence de maladies contagieuses pour les abeilles, constituent des conditions favorables pour le développement de l'apiculture. Cependant, la destruction des plantes mellifères constitue une menace pour les abeilles. La région où nous avons fait l'enquête, à Ambositra, se caractérise par la présence de nombreux agriculteurs en majorité non encadrés aussi bien en apiculture qu'en culture d'agrumes. Les faibles rendements en miel et en agrumes peuvent être liés aux techniques de production peu évoluées, mais aussi aux traitements chimiques faits sans prendre en considération la présence des abeilles. En effet, nous avons constaté que les agriculteurs protègent essentiellement leurs vergers contre l'attaque des insectes ravageurs par le traitement chimique systématique. Du fait du savoir-faire limité en matière de protection de plantes, les agriculteurs n'appliquent pas correctement le traitement. Nous avons observé les problèmes d'inadéquation des produits, de surdosage et de traitements pendant la période de

floraison. Ces traitements affectent les abeilles : les agriculteurs observent des cas d'intoxications et au fil des ans une diminution du nombre de ruches. Ainsi, le traitement phytosanitaire contribue à défavoriser l'apiculture mais la plupart des agriculteurs ne réalisent pas l'importance de l'apiculture pour la production des agrumes, et probablement pour l'agriculture en général.

Nous avons aussi remarqué à travers les analyses de contexte socio-économique de problèmes phytosanitaires que les pucerons sont souvent présents sur les cultures et classés comme un ravageur important. Dans la mesure où plusieurs facteurs peuvent intervenir pour limiter l'action de la population de pucerons, il nous a semblé important d'évaluer l'impact de traitements sur les pucerons et leurs Hyménoptères parasites.

Les résultats de deux années d'expérimentation nous montrent que les insecticides ont un effet direct sur les Hyménoptères parasites (mortalité des jeunes stades, mortalité des adultes) ou différé (retard d'infestation, diminution du nombre de momies). Toutefois, le traitement insecticide ne supprime pas l'action des Hyménoptères parasites qui continuent à limiter les pucerons quand l'insecticide n'est plus efficace. De plus, nous avons mis en évidence que les insecticides ne sont pas le principal facteur de limitation des parasitoïdes : ces derniers sont victimes d'action d'insectes hyperparasites et prédateurs, et de mycoses.

Pour les études en laboratoire, les valeurs de DL50 obtenues permettent de classer des matières actives en fonction de leur toxicité. La toxicité dépend de l'espèce et des matières actives testées, mais les sensibilités aux insecticides testés vont dans le même sens pour les deux types d'insectes. Nous avons trouvé que le chlorpyrifos éthyl est plus toxique que les pyréthriinoïdes chez l'abeille et chez *A. ervi*. Nous n'avons pas le test chez l'abeille pour le pyrimicarbe mais il est le moins toxique pour *A. ervi*. Par rapport à l'abeille, la démarche d'évaluation de la toxicité aiguë par le calcul des DL50 est récente chez les insectes parasitoïdes, recommandée par la SETAC depuis l'année 2000, et très peu de valeurs de DL50 sont encore disponibles. Notre étude en apporte pour quatre insecticides et une espèce utilisée en lutte biologique. Notre étude comparative montre aussi que le calcul de DL50 est aisé et reproductible chez l'insecte parasitoïde étudié, alors que les DL50 calculées pour l'abeille sont en général très disparates d'une étude à l'autre. Cette variabilité pourrait être due aux mœurs sociales de l'abeille.

Ainsi, chez les abeilles, nous avons montré que les insecticides ingérés ne se comportent pas de la même manière en fonction du mode d'ingestion et de la matière active.

Le chlorpyrifos éthyl et la dose faible de diméthoate ont un effet plus toxique en ingestion collective qu'en ingestion individuelle. En analysant le phénomène de trophallaxie lors de l'ingestion collective de sirop contaminé, la trophallaxie apparaît peu importante dans la distribution des matières actives et n'est donc pas la seule cause de la plus forte toxicité en ingestion collective. Il y a toujours quelques abeilles qui ont pu échapper au traitement en ingestion collective du fait de la compétition alimentaire. Ces études nous ont permis de conclure que la valeur de DL50 par ingestion exprimée en ng/abeille n'est pas rigoureuse puisqu'on ne contrôle pas strictement les doses ingérées. Mais, on peut dire malgré tout que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits.

Les matières actives testées ne perturbent pas ou peu la capacité de *A. ervi* à reconnaître respectivement l'odeur de colza infesté de pucerons. On ne constate pas un effet des doses croissantes d'insecticides sur la durée du temps passé dans le champ odorant entre les individus traités et témoins. Chez l'abeille, il est prématuré de conclure à une absence d'effet car même les abeilles témoins ne sont pas attirées par la source d'odeur. Cependant, les doses DL20 et DL50 de deltaméthrine modifient le comportement de locomotion de l'abeille, indépendamment de la présence de l'odeur. L'absence d'effet sur le comportement de locomotion chez *A. ervi* est probablement due à la durée d'observation trop courte pour révéler ces effets. La comparaison des résultats obtenus avec l'abeille et le parasitoïde suggère que le paramétrage des observations en olfactomètre (durée, type d'activité enregistrée) joue sur la mise en évidence des effets.

Dans l'olfactomètre à quatre voies, les insectes répondent individuellement à l'odeur émise par une source à courte distance et sont obligés de marcher. Il est possible que des effets d'insecticide ne s'expriment pas sur l'orientation olfactive observée dans ces conditions, mais se révèlent sur le comportement des insectes en vol ou dans des situations permettant les interactions sociales des abeilles. Des essais complémentaires en tunnel de vol pour les deux insectes nous aideront à comprendre la réalité. Des études portant sur les insectes en cage de vol libre prennent en compte le comportement collectif des abeilles, mais rendent difficile le paramétrage individuel d'un comportement d'orientation, aisé à observer et quantifier en olfactomètre.

Pour résoudre les problèmes phytosanitaires à Madagascar, nous proposons de mettre en priorité certaines améliorations par rapport aux autres orientations du programme de

vulgarisation car les problèmes sont très vastes et difficiles à gérer. Compte tenu de l'ensemble des résultats de l'analyse des problèmes phytosanitaires à Madagascar, on doit orienter les actions de sensibilisation des agriculteurs vers une utilisation des pesticides plus rationnelle et à moindre risque écotoxicologique. Nous avons pensé qu'une lutte intégrée efficace suppose la bonne maîtrise de la lutte chimique qui reste jusqu'à maintenant le moyen le plus efficace pour contrôler les ravageurs. La lutte intégrée repose sur l'utilisation rationnelle des différentes méthodes de lutte parmi lesquelles le traitement chimique doit être réalisé au dernier rang des interventions et doit être le plus respectueux possible de l'environnement et également plus économique. Mais, pour arriver à cette utilisation rationnelle des pesticides, il faudrait que les agriculteurs dominent les paramètres qui déterminent l'efficacité du traitement. Par conséquent, nous jugeons qu'il est primordial de renforcer les connaissances des paysans sur les ravageurs, les insecticides et le mode de traitement, ce qui permettra alors de chercher à améliorer la technique de traitement sur seuil. La sensibilisation à la protection des auxiliaires et à l'application d'une lutte intégrée peut être engagée dès maintenant.

D'autres recherches doivent être effectuées comme l'évaluation de l'importance des insectes pollinisateurs dans l'amélioration de la production fruitière, et des effets de traitements sur les abeilles en plein champ. Toutefois, l'évaluation de la toxicité des insecticides sur les insectes non cibles en laboratoire telle que nous l'avons réalisée dans ce travail, ne peut pas encore être envisagée en routine à Madagascar, faute de moyens adéquats, mais pourrait être mise en œuvre pour répondre à des problèmes ponctuels en collaboration avec des laboratoires français.

Références bibliographiques

- Abramson C.I., Aquino I.S., Ramalho F.S. & Price, J.M., 2000.** The effect of insecticides on learning in the Africanized Honey bee (*Apis mellifera* L.). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37. 529-535.
- ACTA, 1998.** Recueil des effets non intentionnels des produits phytosanitaires. 221p.
- Agromisa, 1996.** L'apiculture sous les tropiques. CTA, Wagenigen. 75p.
- Alix A., Collot D., Nenon J.P. & Anger J.P., 2001.** Measurement of insecticide uptake and effective fraction in a beneficial insect using solid-phase microextraction. Anal. Chem. 73. 3107-3111.
- Andriambololona L, Rasolonjatovo E & Mong-Gine T., 1997.** Comptes rendus des activités et expérimentations de pré vulgarisation. HASYMA Toliara. Documents internes. 25p.
- Andrianaivo, J., 1983.** Evaluation de la qualité de quelques miels et cires d'abeilles de Madagascar. Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 125p.
- Andriatsarafara, G., 1988.** Situation de l'apiculture à Madagascar. Division Apiculture. Madagascar. 45p.
- Appert J., 1972.** Catalogue des insectes nuisibles aux cultures malgaches. IRAM, Madagascar, 125p.
- Atkins E. L. & Anderson L.D., 1954.** Toxicity of pesticide dust to honey bees. J. Econ. Entomol. 47. 969-972.
- Atkins E.L., Kellum D. & Atkins K.W., 1981. Reducing pesticide hazards to honey bees : mortality prediction techniques and integrated management strategies. Univ. Calif., Div. Agric. Sci., Leaflet 2883. 23 p.**
- Bachman W & Gordon W. D., 1977.** Honeybee responses to sugar solutions of different compositions. J. Apic. Res. 4. 165- 169.
- Bahana J. & Karuhize G., 1986.** The role of *Diaeretiella rapae* (McIntosh) (Hymenoptera : Braconidae) in the population control of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera : Aphididae) in Kenya. Insect Sci. Applic. 7. 605-609.
- Bakchine-Huber E., 1994.** Etude de l'apprentissage olfactif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) par une analyse automatique des déplacements. Thèse de Doctorat. Sciences de la vie : Neurosciences, Université Paris-Sud. Centre d'Orsay. 182p.
- Barbier E., 1964.** Pollinisation et fructification du clémentinier. Ann. Abeille. 7. 63-80.
- Barker J.R., Lehner Y. & Kunzmann, 1980.** Pesticides and honeybees : nectar and pollen. Contamination in alfalfa treated with dimethoate. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 9. 125-133.

- Barrett K., Grandy N., Harrison E.G., Hassan S. & Oomen, P., 1994.** Guidance document on regulatory testing procedures for pesticides with non-target arthropods. SETAC. 51p.
- Battaglia D., Pennachio F., Romano A. & Tranfaglia A., 1995.** The role of physical cues in the regulation of host recognition and acceptance behavior of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera : Braconidae). J. Ins. Behav. 8. 739- 750.
- Bendahou N., Bounias M. & Fleche C., 1994.** Compared toxicity of two families of insecticides using new algebraic parameters derived from the Hill equation as a substitute for DL50. Int. J. Occup. Med. Toxicol. 3. 305-317.
- Belzunces L.P., Lenoir-Rousseaux J.J. & Bounias M., 1988. Properties of acetylcholinesterase from *Apis mellifera* heads. Insect Biochem. 18. 811-819.**
- Bicker G., 1993.** Chemical architecture of antennal pathways mediating proboscis extension learning in the honeybee. Apidologie. 24. 235- 248.
- Bicker G., 1999.** Histochemistry of classical neurotransmitters in antennal lobes and mushroom bodies of the honeybee. Microsc. Res. and Techn. 45. 174-183.
- Biri M., 1989.** Le grand livre des abeilles. L'apiculture moderne. Ed. Revue française d'apiculture. 27-28.
- Boch R. & Morse R.A., 1974.** Discrimination of familiar and foreign queens by honey swarms. Ann. Entomol. Soc. Am. 67. 709-711.
- Bos C., 1981.** Mode d'action des pyrethrinoides de synthèse sur l'abeille, approches au laboratoire et en plein champ. Diplôme d'études Approfondies. Université Paris VII- ENSIA. 42p.
- Bouriquet G., 1946.** Maladie des plantes cultivées à Madagascar. Encyclopédie Mycologique. Librairie pour les Sciences Naturelles. 545p.
- Bove J. & Cassin J., 1968.** Problèmes de l'agrumiculture malgache. Compte-rendu de mission, 50p.
- Borgemeister, C., Poehling H. M., Dinter A. & Holler C., 1993. Effects of insecticides on life history parameters of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphii* (Hym.: Aphidiidae). Entomophaga 38. 245-255.**
- Brown W.L., Eisner T. & Whittaker R.H., 1970.** Allomones and kairomones : transpecific chemical messengers. Bioscience. 20. 21-22.
- Burt P.E., Lord K.A., Forrest J.M. & Goodchild R.E., 1971.** The spread of topically applied pyrethrin I from the cuticle to the central nervous system of the cockroach *Periplaneta americana*. Entomol. Exp. Appl. 14. 255-269.

Butler C.G. & Free J.B., 1952. The behaviour of worker honeybees at the hive entrance. *Behaviour*. 4. 262- 292.

Candolfi M.P., Barrett K.L., Campbell P., Forster, Grandy N., Huet M.C., Lewis G., Oomen P.A., Schmuck R. & Vogt H.(eds), 2000a. Guidance document on regulatory testing and risk assessment procedures for plant protection products with non-target arthropods. SETAC Europe, Brussels 24p.

Candolfi M.P., Blümel S., Forster, Bakker F.M., Grimm C., Hassan S.A., Heimbach U., Mead-Briggs M.A., Reber B., Schmuck R. & Vogt H., 2000 b. Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods. OILB/SROP. Gent. 158p.

Cavalloro R., 1982. Aphid antagonists. Proc. EC Experts' Group, Portici, Italy, 23-24 Nov. 1982. Balkema A.A., Rotterdam. 129-134.

Cecilio A. & Iiharco F., 1997. The control of walnut aphid, *Chromaphis juglandicola* (Homoptera : Aphidoidea) in walnut orchards in Portugal. *Acta Hort. (ISHS)*. 442. 399- 406.

Chazeau J., Etienne J. & Fürsch H., 1974. Les Coccinellidae de l'île de La Réunion (Insecta Coleoptera). *Bull. Mus. Hist. Nat.* 2. 265- 297.

Cheron F.H., 2000. Effets sublétaux de la deltaméthrine sur l'orientation olfactive de *Diaeretiella rapae*. Rapport de stage de DEUG de l'Université Paris XI. 17p.

Cluzeau, S. & Paternelle, M.C., 2000. Index phytosanitaire. 36^{ème} édition. ACTA. 73 ; 78-79 ; 117 pp.

Commission des Essais Biologiques (CEB), 1981. Méthode pratique d'essai en vergers, destinée à connaître l'effet à court terme d'insecticides sur la faune auxiliaire. Société Française de Phytiairie et Phytopharmacie. n°99.

Commission des Essais Biologiques, 1996. Méthode de laboratoire d'évaluation de la toxicité aiguë orale et de contact des produits phytopharmaceutiques chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Methode n°95. Association Nationale de Protection des Plantes. 8p.

Conner W.E., Wilkinson C.F. & Morse R.A., 1978. Penetration of insecticides through the foregut of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Pest. Biochem. Physiol.* 9. 131-139.

Corbert S.A., 1985. Insect chemosensory response : a chemical legacy hypothesis. *Ecol. Entomol.* 10. 143- 153.

Couty A., Kaiser L., Huet D. & Pham-Delègue M.H., 1999. The attractiveness of different odour sources from the fruit host complex on *Leptopilina boulardi*, a larval parasitoid of frugivorous *Drosophila spp.* *Physiol. Entomol.* 24. 76-82.

- Cox R. L. & Wilson W.T., 1984.** Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae). Environ. Entomol. 13. 375-378.
- Crane E. & Walker P., 1984.** Pollination directory for world crops. International Bee Research Association. London. 173p.
- 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. Apicul. Res. 27. 146- 161.
- De Jong R. & Kaiser L., 1991.** Odour learning by *Leptopilina boulandi*, a specialist parasitoid (Hymenoptera : Eucoilidae). J. Insect Behav. 4. 743-749.
- De Ju G. & Waage J.K., 1990.** The effect of insecticides on the distribution of foraging parasitoids, *Diaeretiella rapae* (Hym : Braconidae) on plants. Entomophaga. 35. 49-56.
- Decourtye A., 2002.** Etude de l'impact de produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse de doctorat. Université de Paris XI- UFR Scientifique d'Orsay.134p.
- Decourtye A., Le Metayer M., Renou M. & Pham-Delègue M.H., 2000.** Effets de doses sublétales de pesticides sur le comportement de l'Abeille domestique *Apis mellifera* L.. Actes Coll. Insectes Sociaux. 13. 105-113.
- Deleu R. & Mahaut T., 1998.** Predictive models of pirimicarb. Toxicity on three beneficial arthropods. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent. 63/2b. 593- 596.
- Delorme R., 1976.** Evaluation en laboratoire de la toxicité pour *Diaeretiella rapae* (Hym : Aphidiidae) des pesticides utilisés en traitement des parties aériennes des plantes. Entomophaga. 21. 19-29.
- Delorme R., Leroux P. & Gaillardon P., 2002.** Evolution des produits phytosanitaires à usage agricole. Les insecticides-acaricides. Phytoma. 548. 7-13.
- Delpuech, J.M. & Tekinel-Ozalp, P., 1991.** Epigenetic influences of insecticide on host parasitoid relations. Redia. LXXIV. 417-424.
- Delpuech J.M., Froment B., Fouillet P., Pompanon F., Janillon S. & Boulétreau M., 1998 a.** Inhibition of sex pheromone communications of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera) by the insecticide chlorpyrifos. Environ. Toxicol. Chem. 17. 1107- 1113.
- Delpuech J.M., Gareau E., Terrier O., Fouillet P. & 1998 b.** Sublethal effects of the insecticide chlorpyrifos on the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae*. Chemosphere. 36. 1775- 1785.

Delpuech J.M., Legallet B. & Fouillet P., 2001. Partial compensation of the sublethal effect of deltamethrin on the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae*. Chemosphere. 42. 985- 991.

Deleu, R. & Mahaut T., 1998. Predictive models of pirimicarb toxicity on three beneficial arthropods. Meded. Fac. Landbouwkd. Toegepaste Biol. Wet. Univ. Gent 63. 593-596.

Demolis C., 1992. Abeilles et Deltaméthrine. Bull. Tech. 23. 85-87.

Desneux N., Noël B. & Kaiser L., 2000. Effets sublétaux d'un pyréthriinoïde sur le comportement d'orientation du parasitoïde *Aphidius ervi* (Hymenoptera : Aphidiidae) en réponse à l'odeur de colza infesté par *Myzus persicae*. Bulletin OILB/SROP. 23.55-64

Devillers J. & Doré J.C., 2000. Etude bibliographique des effets écotoxicologiques des xénobiotiques vis-à-vis de l'abeille. Program. Communautaire Apic., A.C.T.A.

Dixon A.F.G., 1988 a. Evolution and adaptative, significance of cyclical, parthenogenesis in Aphids. In : Aphids, their biology, natural enemies and control. Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 289-297.

Dixon A.F.G., 1988 b. Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in Aphids. In : Aphids, their biology, natural enemies and control. Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 269-287.

Dixon A.F.G., 1988 c. Seasonal development in Aphids. In : Aphids, their biology, natural enemies and control. Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 315-320.

Douhet M., 1962. L'apiculture à Madagascar dans son contexte tropical, ses possibilités. Division apiculture, Madagascar. 94p.

Dove J.H. , 1994. Usage abusif d'insecticides. SOS Mahajanga. Equilibre écologique en danger. Agricultural Consultants Ltd. Mauritius. 35p.

Dudai, 1989. The neurobiology of memory : concepts, findings, trends. Oxford Univ.press. New-York. 340p.

El-Ansary O. & El-Zogby F., 1992. Toxicity and residual hazards of some insecticides to honey bees. Alexandria J. Agric. Res. 37. 259- 275.

Elzen G.W., 1989. Sublethal effects of pesticides on beneficial parasitoids. In : Pesticides and non target invertebrates. Eds. Jepson P. Intercept, Wimborn. 129-143.

Elzen G.W., O'Brien P.J. & Powell J.E., 1989. Toxic and behavioral effects of selected insecticides on the *Heliothis* parasitoid *Microplitis croceipes*. Entomophaga. 34. 87- 94.

The EPPO/ Council of Europe Risk, 1994. Decision making scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. Chapitre 9, Arthropod Natural Enemies. Bull. OEPP/EPPO. 24.17-35

- F.A.O. (Food and Agriculture Organization), 1986.** Projet TCP/ MAG/ 4507. Développement de l'apiculture à Madagascar.
- Farina W.M. & Nunez J.A., 1995.** Trophallaxis in *Apis mellifera* : effects of sugar concentration and crop load on food distribution. J. Apic. Res. 34 (2). 93- 96.
- Faucon J.P. & Colin M.E., 1983.** Bizarres disparitions. Rev. Fr. Apic. 422. 411.
- Faucon J.P., Flamini C. & Colin M.E., 1985.** Evaluation de l'incidence de la deltaméthrine sur les problèmes de cheptel apicole. Bull. Lab. Vet. 17. 49-66.
- FERT, 2001.** Relance des filières fruits et miel sur les Hautes Terres. Rapport final sur la période du 1er Mai – 30 Septembre 2000. Madagascar. 63p
- Fert G., 1999.** Apiculture à Madagascar. <http://www.beekeeping.com/articles/fr/madagascar>.
- Fiedler L., 1987.** Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honey bees. J. Apic. Res. 26. 115-122.
- Finney D.J., 1971.** Probit analysis, 3rd edition. Cambridge University Press. Great Britain.333p.
- Finizio A., 1998.** Definizione di criteri di classificazione del rischio ambientale di prodotti fitosanitari, con particolare riferimento agli effetti su organismi non bersaglio (Parte II). Rapporto ANPA N.ro 97-58-RC050-75.
- Forrest J.M.S., 1987.** Gallings aphids. In : Aphids, their biology, natural enemies and control Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 341-353.
- Free J.B., 1956.** A study of the stimuli which release the food begging and offering responses of worker honey-bees. An. behav. 4. 94- 101.
- Free J.B., 1957.** The transmission of food between worker honey bees. Br. J. An. Behav. 5. 41-47.
- Free J.B., 1970.** Insect pollination of crops. Academic Press, London. 544p.
- Fresquet N., Fournier D. & Gauthier M., 1998.** A new attempt to assess the effect of learning processes on the cholinergic system : studies on fruitflies and honeybees. Comp. Biochem. & Physiol. 119. B. 349- 353.
- Gallois M., 1999.** Orientation olfactive en tunnel de vol chez l'abeille domestique : *Apis mellifera* L. Diplôme d'Etudes Approfondies. Université Paris-Nord. 25p.
- Gary N.E., 1962.** Chemical mating attractants in the queen honey bee. Science. 136. 773-774.
- Gilbert M.D. & Wilkinson C.F., 1975.** An inhibitor of microsomal oxidation from gut tissues of the honey bee, *Apis mellifera*. Comp. Biochem. Physiol. 50.B. 613-619.

- Gough H.J., McIndoe E.C., Lewis G.B., 1994.** The use of dimethoate as a reference compound in laboratory acute toxicity tests on honeybees (*Apis mellifera* L.) 1981-1992. J. Apic. Res. 33 (2). 119-125.
- Gould J.L., 1975.** Honey bee recruitment: the dance-language controversy. Science. 189. 685-692.
- Grisoni M., 1993.** La culture des agrumes à l'île de la Réunion, CIRAD-FHLOR. 256p
- Gromisz Z. & Gromisz M., 1994.** Szkodliwe działanie kontaktowe preparatu Decis dla pszczol wocenie laboratory jny. Pszczelnicze Zesz Nauk. 38. 57- 66.
- Guerrieri E., Poppy G.M., Powell W, Tremblay E. & Pennacchio F., 1999.** Induction and systemic release of herbivore induced plant volatiles mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. J. Chem. Ecol. 25. 1247-1261.
- Hågvar E.B. & Hofsvang T., 1991.** Aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae) : biology, host selection and use in biological control. Biocontrol News Inf. 12. 13-41.
- Hassan J.A., 1989.** Pesticide resistance in arthropod natural enemies : variability and selection responses. In : Pesticide resistance in arthropods. Ed. Jepson P. Intercept. Wimborn. 1-18.
- Hassan S.A., Bigler F., Bogenschütz H., Boller E., Brun J., Chiverton P., Edwards P., Mansour F., Naton E., Oomen P.A., Overmeer W.P.J., Polgar L., Rieckmann W., Samsoe-Petersen L., Stäubli A., Sterk G., Tavares K., Tuset J.J., Viggiani G. & Vivas A.G., 1988.** Results of the fourth joint pesticide-testing program carried out by the IOBC/WPRS. J. Appl. Ent. 105. 321- 329.
- Haynes K. F., 1988.** Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Annu. Rev. Entomol. 33. 149- 168.
- Hill D.S., 1994.** Agricultural Entomology. Timber Press. Inc. 512-551.
- Hullé M. & Ighil E.T.A., 1999.** Les pucerons des plantes maraîchères- cycles biologiques et activités de vol. INRA- ACTA. 136p.
- Ingram M, Nabhan G.P. & Buchmann S., 1996.** Impending pollination crisis threatens biodiversity and agriculture. Tropinet 7. 1.
- Jansen J.P., 1996.** Side effects of insecticides on *Aphidius rhopalosiphi* (Hym : Aphidiidae) in laboratory. Entomophaga. 41. 37- 43.
- Jean- Prost A. J., 1987.** Apiculture. Connaître l'abeille- Conduire le rucher. Lavoisier. 565p.
- Johansen C.A., 1984. Behavior of pollinators following insecticide exposure. Am. Bee J. 124. 225-227.**
- Johansen C.A., 1977.** Pesticides and pollinators. Ann. Rev. Entomol. 22. 177-192.
- Johansen C.A., 1977. Pesticides and pollinators. Annu. Rev. Entomol. 22. 177-192.**

- Kaiser L., Pham-Delègue M.H., Bakchine E. & Masson C., 1989.** Olfactory responses of *Trichogramma maidis* Pint. et Voeg. : effects of chemical cues and behavioural plasticity. *J. Insect Behav.* 2. 701-712.
- Kaminski L.A., Slessor K.N., Winston M.L., Hary N.W. & Borden J.H., 1990.** Honeybee response to queen mandibular pheromone in laboratory bioassays. *J. Chem Ecol.* 16. 841-850.
- Kölbl O., 1992.** Propositions pour un inventaire forestier à Madagascar se basant sur le relevé terrestre et des images satellites. Organisation Suisse pour le Développement et la Coopération. 11p.
- Koltermann R., 1974.** Periodicity in the activity and learning performance of the honeybee. In : *Experimental analysis of insect behavior*. Ed. L. Berton Browne. Springer- Verlag. Berlin. 218-227.
- Komez N., Fouillet P., Boulétreau M. & Delpuech J.M., 2001.** Modification by the insecticide chlorpyrifos of the behavioral response to kairomones of a parasitoid wasp, *Leptopilina bouvardi*. *Arch. Environ. Toxicol.* 41. 436- 442.
- Krespi L., 1990.** Etude de la biocénose parasitaire des pucerons des céréales dans le bassin de Rennes : cas particulier d'*Aphidius uzbekistanicus* Luz. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes I. 80-105.
- Krespi L., Rabasse J.M., Dedryver C.A. & Nenon J.P., 1991.** Effect of three insecticides on the life cycle of *Aphidius uzbekistanicus* Luz. (Hym., Aphidiidae). *J. Appl. Ent.* 111. 113-119.
- Kriston I., 1973.** The evaluation of odor and color signals as aids to orientation at the feeding site by *Apis mellifera* L. *J. Comp. Physiol.* 84. 77-94.
- Kuklinski F., 2000.** Les ravageurs de la culture cotonnière Malagasy. Projet DPV/GTZ. 167p.
- Kuklinski F. & Borgemeister C., 2001.** Cotton pests and their natural enemies in Madagascar. *J. Appl. Ent.* 126. 55-65.
- Kunze G., 1933.** Einige Versuche über den Antennengeschmacksinn der Honigbienen. *Zool. Jahr. Abt. Zool. Physiol.* 52. 465-512.
- Lambin M., Armengaud C., Raymond S. & Gauthier M., 2001.** Imidacloprid induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 48. 129- 134.
- Leclant F., 1981.** Les effets nuisibles des pucerons sur les cultures. In : *Les pucerons des cultures*. ACTA. 37- 56.

- Lindauer M., 1970.** Lernen und Gedächtnis. Versuche an der Honigbiene. Naturwissenschaften. 57. 463-467.
- Longley M., 1999.** A review of pesticide effects upon immature aphid parasitoids within mummified hosts. Int. J. Pest Manag. 45. 135- 145.
- Longley M. & Jepson P.C., 1996.** Effects of honeydew and insecticide residues on the distribution of foraging aphid parasitoids under glasshouse and field conditions. Entomol. Exp. Applic. 81. 189- 198.
- Longley M. & Stark J. D., 1996.** Analytical techniques for quantifying direct, residual and oral exposure of an insect parasitoid to an organophosphate insecticide. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57. 683- 690.
- Louveaux J., 1984.** Les traitements phytosanitaires et les insectes pollinisateurs. In : Pollinisation et production végétales. Eds Pesson & J. Louveaux. INRA Paris. 565-575.
- Mackauer M., Michaud J.P. & Volkl W. 1996.** Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera : Aphidiidae) host recognition, host quality and host value. Can. Entomol. 128. 959-980.
- Mac Kenzie K.E. & Winston M.L., 1989.** The effects of sublethal exposure to diazinon, carbaryl and resmethrin on longevity and foraging in *Apis mellifera* L. Apidologie. 20. 29-40.
- Mamood A.N. & Waller G.D., 1990.** Recovery of learning responses by honeybees following a sublethal exposure to permethrin. Physiol. Entomol. 15. 55-60.
- Masson C., Pham-Delègue M.H., Fonta C., Gascuel J., Arnold G., Nicolas G. & Kerszberg M., 1993.** Recent advances in the concept of adaptation to natural odor signals in the honeybee, *Apis mellifera* L. Apidologie. 24. 169-194.
- Matsumura F., 1985.** Classification of insecticides. In : Toxicology of insecticides. Plenum Press. Second edition. 98-112.
- Mead-Briggs M.A., Brown K., Candolfi M.P., Coulson M.J.M., Miles M., Moll M., Nienstedt K., Schuld M. Ufer A. & McIndoe E., 2000.** A laboratory test for evaluating the effects of plant protection products on the parasitic wasp, *Aphidius rhopalosiphii* (De Stephani-Perez) (Hymenoptera : Braconidae). Bull. OILB/SROP. 23. 13-25.
- Menzel R., 1985.** Learning in honey bees in an ecological and behavioral context. In : Experimental Behavioral Ecology and Sociobiology. Eds B. Hölldobler & M. Lindauer. Fisher Verlag, Stuttgart, New-York. 55-74.
- Mestres R. & Mestres G., 1992.** Deltamethrin : Uses and environmental safety. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 124. 1-17

- Meurillon A., 1989.** Eléments d'entomologie appliquée. Ravageurs du riz, cotonnier, agrumes et denrées entreposées, et lutte. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. Antananarivo. 124p.
- Meurillon A., 1989.** Cours de phytopharmacie. Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. Antananarivo. 86.
- Migula P., Hurny J., Kedzierski A., Nakonieczny M., Kafel A. & Binkowska K., 1990.** Metabolic effects of the pyrethroid action in the honeybee. Uttar Pradesh J. Zool.. 10.1- 10.
- Miles P.W., 1987.** The response of plants to the feeding of Aphidoidea : principles. In : Aphids, their biology, natural enemies and control. Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 1-22.
- Miyazacki M., 1987.** Forms and morphs of aphids. In : Aphids, their biology, natural enemies and control. Eds A.K. Minks & P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam. 27-50.
- Moritz, R.F.A., 1982.** Präparatverteilung bei systemischer Therapie von Ektoparasitosen bei *Apis mellifera* L. Apidologie. 13. 127- 141.
- Moritz R.F.A. & Hallmen M., 1986.** Trophallaxis of worker honeybees (*Apis mellifera* L.) of different ages. Insectes Soc. 33. 26-31.
- Murray A., 1985.** Acute and residual toxicity of a new pyrethroid insecticide, WL85871, to honey-bees. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 34. 560-564.
- Narahashi T., 1996.** Neuronal Ion channels as the target sites of insecticides. Pharmac. & Toxicol. 78. 1-14.
- Nauen R., Ebbinghaus-Kintscher U. & Schmuck R., 2001.** Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). Pest Manag. Sci. 57. 577-586.
- Nguyen Khac A., 1995.** Plasticité comportementale de l'abeille ouvrière (*Apis mellifera* L.) en réponse à la phéromone royale. Diplôme d'Etudes Approfondies. Université Paris Nord XII. 25p.
- Nicolas G. & Sillans D., 1989.** Immediate and latent effects of carbon dioxide on insects. Annu. Rev. Entomol. 34. 97-116.
- Niera C. M. & Barriga G. J., 1995.** Comportamiento polinizador de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) en frambueso *Rubus idaeus* L. cv. Heritage, debido al afecto de dos atrayentes y un repelente. Agro. Sur. 23. 52- 59.
- Noble-Nesbitt J., 1970.** Structural aspects of penetration through insect cuticles. Pestic. Sci.
- Padilla S., 1995.** The neurotoxicity of cholinesterase inhibiting insecticides : past and present evidence demonstrating persistent effects. Inhal. Toxicol. 7. 903- 907.

- Pain J., 1954.** Sur l'ectohormone des reines d'Abeilles. CR. Acad. Sci. 239. 1869-1970.
- Pain J., 1966.** Nouveau modèle de cagettes expérimentales pour le maintien d'abeilles en captivité. Ann. Abeille. 9. 71- 76.
- Pennacchio F. & Digilio M.C., 1990.** Morphology and development of larval instars of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera Braconidae Aphidiinae). Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri. 46. 163-174.
- Peterson M., 1986.** Rapport technique sur le développement de l'apiculture à Madagascar. FAO, Rome.
- Petterson J., 1970.** An aphid sex attractant. I. Biological studies. Entomol. Scand. 1. 63-73.
- Pham-Delègue M.H., Roger B. & Pain J., 1982.** Variation en fonction de l'âge des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica ligustica* L.) du pouvoir d'attraction d'un extrait de phéromone royale. Apidologie 13. 143-155.
- Pham-Delègue M.H., Le Metayer M., Douault P. & Masson C., 1990 b.** Age related foraging behavior in honeybees under artificial conditions. Apidologie. 21. 107-114.
- Pham-Delègue M.H., Roger R., Charles R. & Masson C., 1990 a.** Effet d'une préexposition olfactive sur un comportement d'orientation en olfactomètre dynamique à 4 voies chez l'abeille (*Apis mellifera* L.) Insectes Soc. 37. 181-187.
- Pham-Delègue M.H., Trouiller J., Bakchine E., Roger B. & Masson C., 1991 a.** Age dependency of worker bee response to queen pheromone in a four-armed olfactometer. Ins. Soc. 38. 238- 292.
- Pham-Delegue M.H., Trouiller J., Caillaud C.M., Roger B. & Masson C., 1991 b.** Effect of queen pheromone on worker bees of different ages : behavioural and electrophysiological responses. Apidologie. 24. 267- 281.
- Pham-Delègue M.H., Etiévant P. & Masson C., 1992.** Allelochemichals mediating foraging behaviour : the bee-sunflower model. In : The Behaviour and Physiology of bees. Eds L.J. Goodman & R .C. Fisher. Chap. 13. 163-164.
- Pham-Delègue M.H., Decourtye A., Kaiser L. & Devillers J., 2002.** Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. Apidologie. 33. 425- 432.
- Pilling E.D. & Jepson P.C., 1993.** Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). Pest. Sci. 39. 293- 297.
- Pilling E.D., Bromleychallenor K.A.C., Walker C.H. & Jepson P.C., 1995.** Mechanism of synergism between the pyrethroid insecticide lambda cyhalothrin and the imidazol fungicid prochloraz, in the honeybee (*Apis mellifera* L.). Pestic. Biochem. Physiol. 51. 1- 11.

- Pouvreau A., 1984.** Quelques cultures fruitières des régions tropicales. In : Pollinisation et productions végétales. Eds Pesson & J. Louveaux INRA- Paris. 409-426.
- Powell, W., 1982.** The identification of Hymenopterous parasitoids attacking cereal aphids in Britain. Syst. Entomol. 7. 465- 473.
- Praloran J. C., 1971.** Les agrumes. Ed. Maisonneuve et Larose. PARIS. 565 p.
- Praloran J.C., Poncheville P. & Naville R. 1964.** L'agrumiculture sur les Hauts-Plateaux. Projet d'implantation et de développement. Madagascar, 8p.
- Rabasse, J.M., 1983.** Rôle des parasites de pucerons dans les cultures de l'Ouest de la France. ACTA. 49-56.
- Rabenandro T.H., 1998.** Contribution à l'étude de l'élevage des reines chez *Apis mellifica unicolor* à Madagascar. Cas d'Andasibe- Ambatolaona. Mémoire de fin d'études. ESSA. Madagascar. 125p.
- Rafalimanana H.J., 1995.** Etude de quelques aspects de la protection des cultures à Madagascar. Projet FAC/ ESSA. 124p.
- Rafalimanana H.J., Kaiser L. & Delpuech J.M., 2002.** Stimulating effects of the insecticide chlorpyrifos on host searching and infestation efficacy of a parasitoid wasp. Pest Manag. Sci. 58. 321- 328.
- Raholijaona 1997.** Les prédateurs des acridiens. In : Symposium sur la lutte antiacridienne à Madagascar. DPV/GTZ. 345-366.
- Rakotoarimanana J., 1995.** Utilisation des pesticides en cultures maraîchères. In : Symposium sur la protection intégrée des cultures maraîchères à Madagascar. DPV/GTZ. 235- 244.
- Rakotofiringa H., 1997.** Madagascar : bilan de dix années de production cotonnière (1987-1996). Coton Dev. 24. 19-24.
- Rakotomalala T.R, 1988.** Pour une stratégie de redressement du développement apicole dans la région de Manjakandriana. Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 98p.
- Ramamonjisoa R.Z., 1992.** Etude du comportement de butinage de l'abeille *Apis mellifera var unicolor* d'après les analyses polliniques dans la région des hauts-plateaux. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, faculté des Sciences. Université d'Antananarivo. 164p.
- Ramananarivo A.E., 1998.** Culture cotonnière dans le Sud-Ouest de Madagascar : Pratique paysanne en matière de lutte contre les ravageurs du cotonnier. Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 122p.
- Ranoromalala A & Rabemananjara, 1998.** Situation de l'apiculture à Madagascar. Division apiculture. 53p.

- Rasamiarivony V., 1999.** Proposition de mise en place d'un réseau de surveillance des principaux ravageurs et maladies du riz dans la région du Sud-Ouest de Madagascar (Cas de la zone d'Ankililoaka). Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 63p.
- Ratsimbazafy M., 1999.** Manuel pour la conduite d'un verger sur les hauts plateaux Malgaches. D.P.V.- G.T.Z. Madagascar. 100p.
- Ratsimiseta R. & Mathieu P., 2000.** Présentation de Madagascar. <http://roland-ratsimiseta.free.fr/madasite/présentation/html/site-présentation.htm>
- Ravazzi G., 1996.** Cours d'apiculture. Ed. de Vecchi. France. 135p.
- Razafindrakoto M., 1979.** Pour une politique d'apiculture à Madagascar. Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 86p
- Razanakolona J., 2000.** Guide pour les techniques d'élevage des abeilles. Antananarivo. 48p.
- Reboulet J.N., 1986.** Conséquences à moyen terme des pesticides sur la faune auxiliaire. Approche d'une méthodologie de plein champ pour connaître l'incidence du traitement phytosanitaire sur les prédateurs et sur les parasites de pucerons des épis. Déf. Vég.238.31-35.
- Reboulet J.N., 1994.** Impact des produits phytosanitaires sur la faune auxiliaire. Méthodologie d'expérimentation en vergers. ACTA. 45p.
- Reckhaus P., 1997.** Maladies et ravageurs des cultures maraîchères, à l'exemple de Madagascar. Weikersheim : Margraf. 125- 153.
- Regard A, 1988.** Le manuel de l'apiculteur néophyte. Ed. Lavoisier, Paris, 163p.
- Riba G. & Silvy C., 1989. Combattre les ravageurs des cultures. Enjeux et perspectives. INRA éditions, Paris. 230p.**
- Rieth J.P. & Levin M. D., 1987.** The pyrethroid insecticide hazard to honey bees. Am. Bee J. 127. 789-790.
- Sakagami S.F., 1953.** Untersuchungen über die Arbeitsteilung in einem Zwergvolk der Honigbiene. Beitrag zur Biologie des Bienenvolkes, *Apis mellifica* L. Jpn. J. Zool. 11. 117-185.
- Salerno G., Colazza S. & Conti E., 2002.** Sub-lethal effects of deltamethrin on walking behaviour and response to host kairomone of the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. Pest Manag. Sci. 58. 663- 668.
- Sanchez S., 1998.** Diagnostic technico-économique de l'agrumiculture dans deux petites régions des Hautes-Terres de Madagascar. Rapport de stage de pré-option pour la 3^{ème} année du cycle d'Ingénieur au CNEARC. Madagascar.57p.
- Sandoz J.C., 1998.** Apprentissage olfactif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) : étude comportementale et sensorielle. Thèse de doctorat. Université Paris XIII. 262p.

- Sauphanor B., Belzunces L., Brun J., Chabert A. & Colin M.E., 1992.** Produits phytosanitaires et organismes utiles, une approche Européenne. *Phytoma. Déf. Vég.* 445. 13-16
- Schricker B., 1974 a.** The effect of sublethal doses of parathion on the indication of distance in honeybees. *Apidologie.* 5. 149-175.
- Schricker B., 1974 b.** The effect of sublethal doses of parathion on the time sense in honeybees. *Apidologie.* 5. 384-398.
- Seeley T.D., 1982.** Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11. 287-293.
- Seeley T.D., 1995.** The wisdom of the hive : The social physiology of honey bee colonies. Harvard University Press. Cambridge MA. 295.
- Sicard A., 1909.** Révision des Coccinellides de la faune malgache II. Coccinellidae. Aphidiphagae. III Pseudococcinellidae. *Ann Soc. Ent. Fr.* 78. 63-165.
- Simpson J., 1979.** The existence and physical properties of pheromones by which worker honeybees recognize queens. *J. Apic. Res.* 18. 233- 249.
- Slessor K.N., Kaminski L.A., King G.G.S., Borden J.H. & Winston M.L., 1988.** Semiochemical basis of the retinue response to queen honeybees. *Nature.* 332. 354-356.
- Smart L.E. & Stevenson J.H., 1982.** Laboratory estimation of toxicity of pyrethroid insecticides to honeybees : relevance to hazard in the field. *Bee World.* 63. 150- 153.
- Smirle M.J., Winston M.L. & Woodward, 1984.** Development of a sensitive bioassay for evaluating sublethal pesticide effects on the honey bee (Hymenoptera : Apidae). *J. Econ. Entomol.* 77. 63-67.
- Soderlund D.M., Hessney C.W. & Helmuth D.W., 1983.** Pharmacokinetics of cis- and trans- substituted pyrethrinoids in the american cockroach. *Prog. Pestic. Biochem. Toxicol.* 20. 161- 168.
- Soderlund D.M. & Bloomquist J.R., 1989.** Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu. Rev. Entomol.,* 34. 77-96.
- Soudjay M. N., 2002.** Etude de la protection des végétaux dans le cadre de l'agriculture biologique : cas de poivrier de la côte Est de Madagascar. Mémoire de fin d'études, ESSA. Madagascar. 81p.
- Sprent P., 1992.** Pratique des statistiques non paramétriques. Techniques et pratiques. INRA
- Stapel J. O., Cortesero A. M. & Lewis W.J., 2000. Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: Altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. Biol. Control 17.**

243-249.

Stary P., 1966. Aphid Parasites of Czechoslovakia. A review of the Czechoslovak *Aphidiidae* (Hymenoptera). Academia, Prague. 242p.

Stary P., 1987. Subject bibliography of aphid parasitoids (Hymenoptera : Aphidiidae) of the world 1758-1982. Monogr. Appl. Entomol. (Suppl. J. Appl. Entomol.). 25. 101p.

Stary P., 1988. Aphidiidae. In : Aphids. Their biology, natural enemies and control. Eds Minks, A.K. & Harrewijn, P. Elsevier- Amsterdam. 2B. 171- 184.

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

Stevenson J.H., 1968. Laboratory studies on the acute contact and oral toxicities of insecticides to honeybees. Ann. Appl. Biol. 61. 467-472.

Stevenson J.H., 1978. The acute toxicity of unformulated pesticides to worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Plant Path. 27. 38-40.

Stevenson J.H., Smart L.E. & Walters J.H.H., 1984. Laboratory assessment of insecticide selectivity. Practical relevance. In : British Crop Protection Conference. Pest and Diseases. 355-358.

Stone J.C., Abramson C.I. & Price J.M., 1997. Task-dependent effects of dicofol (kelthane) on learning in the honey bee (*Apis mellifera*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58. 177-183.

Stoner A. Wilson W.T. & Rhodes H.A., 1982. Carbofuran: effect of long-term feeding of low doses in sucrose syrup on honey bees in standard-size field colonies. Env. Entomol. 11. 53-59.

Stoner A. & Wilson W.T., 1982. Diflubenzuron (Dimilin): effect of long-term feeding of low doses in sugar-cake or sucrose syrup on honey bees in standard-size field colonies. Am. Bee J. 122. 579-582.

~~**Stoner A., Wilson W.T., Harvey J., 1983.** Dimethoate (Cygon) : effect of long-term feeding of low doses on the honeybees in standard-size field colonies. Southwest Entomol. 8. 74-177.~~

Suchail S., 2001. Etude pharmacocinétique et pharmacodynamique de la létalité induite par l'imidaclopride et ses métabolites chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse de doctorat. Université Claude Bernard-Lyon 1. 166p.

Suchail S., Guez D & Belzunces L., 2000. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. Environ. Toxicol. Chem. 19. 1901- 1905.

Sullivan S.J., 1988. Hyperparasite. In : Aphids. Their biology, natural enemies and control. Eds Minks A.K. & P. Harrewijn. Elsevier. Amsterdam. 2B. 189- 203.

Süss L, 1983. Survival of pupal stage of *Aphidius ervi* Hal. in mummified *Sitobion avenae* F. to pesticide treatment. In : Aphid antagonists. Ed. Cavalloro R. Rotterdam. 129-134.

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

Ternes P., Candolfi M.P., Ufer A. & Vogt H., 2001. Influence of leaf substrates on the toxicity of selected plant protection products to *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari : Phytoseiidae) and *Aphidius rhopalosiphii* DeStefani Perez (Hymenoptera : Aphidiidae). *Pesticides and Beneficial Organisms*. 24. 7-15.

Tezze A.A. & Farina W.M., 1999. Trophallaxis in the honey bee, *Apis mellifera* : the interaction between viscosity and sucrose concentration of the transferred solution. *An. Behav.* 57. 1319-1326.

Tingle C.C.D. & Andrew N. Mc.W., 1998. Evaluation de l'effet à court terme sur les organismes non cibles des mesures d'urgence utilisées pour la lutte antiacridienne à Madagascar. Rapport d'analyse de l'Office National pour l'Environnement de Madagascar. 73p.

Theiling M.K. & Croft B.A., 1988. Pesticide side effects on Arthropod natural enemies : a database summary. *Agric. Ecosystems Environ.* 21. 191- 218.

Trouiller J., 1993. La communication chimique inter et intraspécifique chez l'abeille. Relation abeille- varroa, couvain- ouvrière et reine- ouvrière. Thèse de l'Université de Paris VII. 146p.

Tumlinson J.H., Lewis W.J. & Vet L.E.M. 1993. Comment certaines guêpes détectent leurs hôtes. *Pour la Science*. 187. 84-90.

Turlings T.C.J. & Tumlinson J.H., 1992. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 89. 8399-8402.

Turling T.C.J., Scepemaker J.W.A., Vet L.E.M., Tumlinson J.H. & Lewis W.J., 1990. How contact foraging experiences affect preferences for host-related odours in the larval parasitoid *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera). *Chem. Ecol.* 16. 1577- 1589.

Umoru P. A., Powell W. & Clark S.J., 1996. Effect of pirimicarb on the foraging behaviour of *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera : Braconidae) on host-free and infested oilseed rape plants. *Bull. Entomol. Res.* 86. 193-201.

Van Buren N.W.M., Mariën A.G.H. & Velthuis H.H.W., 1993. The role of trophallaxis in the distribution of Perizin in a honeybee colony with regard to the control of the *Varroa* mite. *Entomol. Exp. Appl.* 65 : 157- 164.

- Van Driesche R.G., 1983.** Meaning of « percent parasitism » in studies of insect parasitoids. Environ. Entomol. 12. 1611-1622.
- Vandame R., Meled M., Colin M.E. & Belzunces L.P., 1994.** Alteration of the homing-flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to sublethal dose of deltamethrin. Environ. Toxicol. Chem. 14. 855-860.
- Védrenne Y., 2002.** L'apiculture en France. Le Courrier de la Nature. 196. 39-41.
- Vet L.E.M. & Dicke M., 1992.** Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. Annu. Rev. Entomol. 37.141-172.
- Vet L.E.M., van Lenteren J.C., Heymans M. & Meelis E., 1983.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. Physiol. Entomol. 8. 97-106.
- Vinson S.B., 1998.** The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. Biol. Control. 11.79- 96.
- Von Frisch K., 1967.** The dance language and orientation of bees. The Belknap press of Harvard Univ. Press, Cambridge. 556p.
- Waage J.K., 1989. The population ecology of pest-pesticide-natural enemy interactions. In : Pesticides and Non-target Invertebrates. Jepson (ed.). Intercept, Wimborn. 81-93.**
- Williams I.H., Corbert S.A & Osborne J.L., 1991.** Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community. Bee World. 72.170-180.
- Wilson E.O., 1971. The Insect Societies. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 548p.**
- Winston M.L., 1987.** The biology of the honeybee. Harvard University Press. Cambridge. Massachusetts. 281p.
- Worthing C.R., 1979.** The pesticide manual. A world compendium. 6th edition. British crop Protection Council. 119 ; 137 ; 432.

Annexe 1

Questionnaires d'enquête

Identification de l'enquêté

Appartenance au groupement

Activité journalière

Autres activités

* Apiculture

- Nombre de ruches

- Type de ruches : ruche traditionnelle- ruche améliorée- ruche moderne

- Matériels apicoles : lève cadre- enfumoir- vêtement de protection- brosse à abeilles- autres

- Pratique apicole :

 Origine des essaims : achat- multiplication par essaimage- essaim sauvage

 Mode de peuplement : par enruchement- transvasement- essaimage artificiel

 Choix de l'emplacement : près de l'habitation- près des sources mellifères- autres

 Autre pratique apicole : clippage de reine

 Entretien : apport de sirop- nettoyage de rucher- visites sanitaires des ruches

- nombre de récoltes

- Production par ruche ou totale, et avis sur la quantité

- Destination des produits : autoconsommation- vente- autres

- Constatation sur les plantes mellifères les plus butinées

* Agrumiculture

- Variétés d'arbres fruitiers utilisés

- Choix du lieu de plantation : surface disponible- bien exposée au soleil- type de sol- autres

- Type de plantation : en courbe de niveau- en quinconce- irrégulière

- Mise en place des arbres : labour profond – installation des trous de plantation-

- Mode de rebouchage

- Mode de multiplication : par graine- greffage- achat des jeunes plants

- Matériels de greffage : sécateur- couteau

- Fertilisation : Fumure de fond : fumier - engrais

- Pratique de la culture intercalaire et les plantes intercalaires utilisées

- Soins apportés aux jeunes plants : habillage- traitement phytosanitaire
- Entretien des arbres : Type de taille- paillage- fumure d'entretien- traitement phytosanitaire
- Production
- Destination des fruits : autoconsommation- vente
- Importance de la vente sur pied

*** Problèmes phytosanitaires**

- Connaissance des ravageurs et maladies : critère utilisé pour les maladies- et les insectes
- Méthode pour distinguer les dégâts dus aux insectes et dus aux maladies
- Appréciation du niveau de dégât : pas d'observation- faible- fort
- Action menée contre les insectes et contre les maladies :
 - enlèvement des feuilles sèches ou présentant des taches
 - écrasement des larves observées
 - utilisation des produits naturels : neem- cendre-
 - utilisation des pesticides
- Si traitement chimique, correspondance entre pesticide utilisé et ennemi
- Type de traitement : ULV- EC- autres- mode d'épandage
- Pesticides utilisés
- Critère de choix d'un produit phytosanitaire : polyvalence- facilité d'emploi- efficacité
- Explication de la préparation de la bouillie : → dose
- Critères pour déclencher le traitement : dès apparition des ravageurs- systématique
- Fréquence de traitement
- Moment de traitement : en dehors de l'activité des abeilles ou non

*** Interaction entre culture d'agrumes et apiculture**

- Connaissance du rôle de l'abeille dans la production d'agrumes
- Connaissance du rôle des arbres fruitiers dans la production de miel
- Constatation de la présence des abeilles sur les arbres traités :
 - le jour du traitement
 - ou quelques jours après le traitement
- Citer les signes d'intoxication des abeilles après le traitement
- Avis sur le traitement phytosanitaire : nocif- aucun effet- sans avis
- Raison de l'abstention de traitement : pour protéger les abeilles- cherté- méconnaissance

Annexe 2

Exemples de droites de mortalité

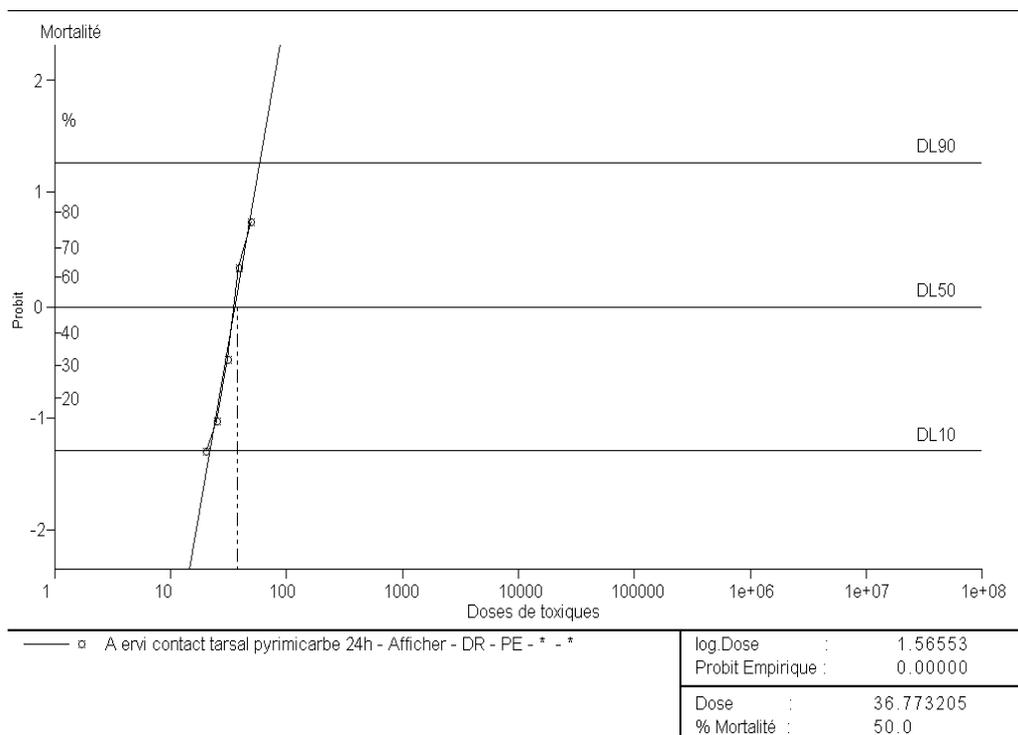


Figure 59 : Droite de mortalité d'*A. ervi* après 24 heures de contact tarsal avec des résidus de pyrimicarbe

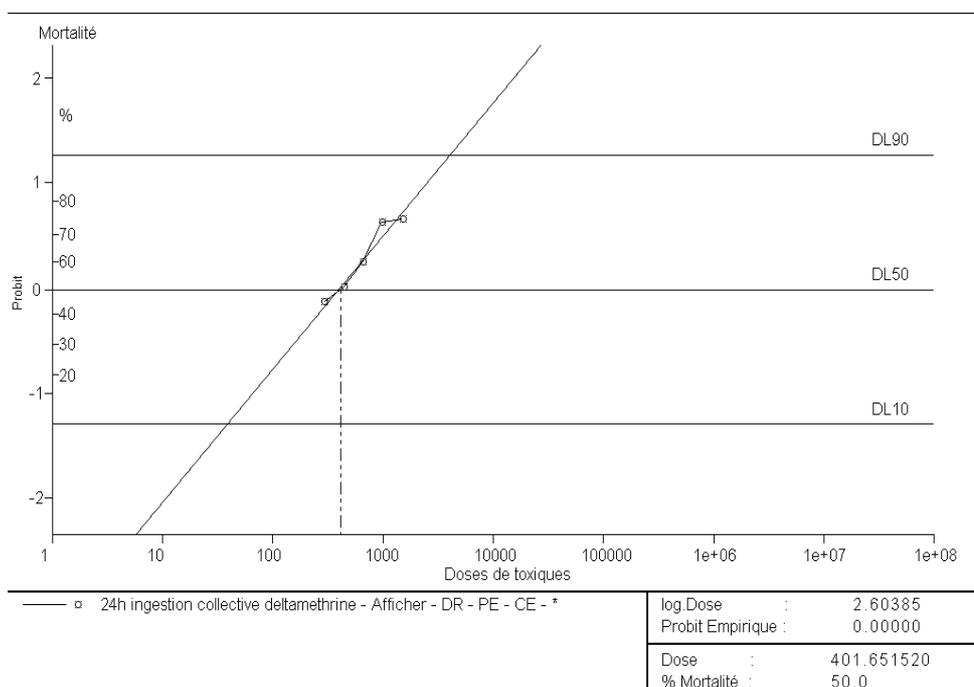


Figure 60 : Droite de mortalité des abeilles 24 heures après ingestion collective de deltaméthrine

Annexe 3 :

Prédateurs

Cheilomenes simulans ou *Cheilomenes sulphurea* (Olivier) *Elpis dolens* (Mulsant)
C. triangulifera
Scymnus constrictus (Mulsant) *Paragus sp.* (Macquart)

Parasitoïdes

Syrphophagus (Ashmead)

Publications et colloques

Journal scientifique à comité de lecture

Rafalimanana H.J., Kaiser L. & Delpuech J.M., 2002. Stimulating effects of the insecticide chlorpyrifos on host searching and infestation efficacy of a parasitoid wasp. *Pest Manag. Sci.* 58. 321- 328.

Actes de colloques

Rafalimanana H.J. & Rabezandrina R., 1995. Les cultures maraîchères autour d'Antananarivo : production et protection phytosanitaire. Actes du Symposium organisé par la Direction de la Protection des Végétaux et GTZ (Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit). Antananarivo- Madagascar. 4- 8 décembre 1995. 82-89.

Rafalimanana H.J., Pham-Délégué M.H. & Charenton M., 2002. Comparaison de la toxicité aiguë de deux modes d'ingestion d'insecticides : ingestion collective et ingestion individuelle chez *Apis mellifera*. Actes du Colloque organisé par l'Union Internationale pour l'Etude des Insectes Sociaux. Section française. INRA de Versailles. 16-18 septembre 2002. 209-212.

Kaiser L., Delpuech J.M., Kreiter P., Malausa J.C., Desneux N., Komez N. & **Rafalimanana H.**, Soumis. Evaluation des effets sublétaux d'insecticides sur des insectes auxiliaires entomophages (Ecotox-Parasitoïdes). Actes du Séminaire PNETOX. 3- 4 octobre 2002. Paris.

Publications à Madagascar

Rafalimanana H.J., 1994. Production et valorisation des essences de longoza, *Hedychium coronarium* Koenig (Zingiberacées). Mémoire de fin d'études à l'ESSA. 175p.

Rafalimanana H.J., 1995. Synthèse des études faites sur les plantes à huiles essentielles. ESSA/ Projet FAC. 68p.

Rafalimanana H.J., 1995. Quelques aspects de la protection des cultures à Madagascar. ESSA. Projet FAC. 124p.

Publication en cours

Desneux N., **Rafalimanana H.J.** & Kaiser L., en préparation. Investigation of dose response relationship in sublethal effects of four insecticides on olfactory responses of the parasitic wasp *Aphidius ervi*.

Résumé

Les abeilles et les parasitoïdes de pucerons courent le risque d'exposition à des insecticides qui ne leur sont pas destinés. Nos objectifs consistent à évaluer ce risque sur le terrain et à contribuer à mettre au point des tests de toxicité létale et sublétales en laboratoire pour les deux types d'insectes.

A Madagascar, nous avons mené une enquête pour déterminer l'impact de pratiques paysannes en matière de protection de cultures d'agrumes sur les abeilles, et une expérimentation en parcelle de choux pour évaluer les effets de traitements insecticides sur les Hyménoptères parasites de pucerons. En France, nous avons déterminé en laboratoire les toxicités aiguës de la deltaméthrine, de la lambda cyhalothrine, du chlorpyrifos éthyle et du pyrimicarbe, pour les abeilles et le parasitoïde de pucerons, *Aphidius ervi*. Nous avons analysé, chez l'abeille, certaines causes de variabilité des doses létales à 50%. Nous avons également déterminé les effets d'insecticides sur le comportement d'orientation olfactive en olfactomètre chez l'abeille et *A. ervi*.

A Madagascar, le traitement pendant la floraison existe et les apiculteurs constatent des effets négatifs sur leurs ruches. L'expérimentation en parcelle de chou montre que le traitement insecticide contribue à retarder l'action des Hyménoptères parasites de pucerons.

En laboratoire, la toxicité varie en fonction du mode de pénétration et de la nature des matières actives. Chez l'abeille, les toxicités par ingestion collective et individuelle ne sont pas toujours comparables. L'importance du phénomène de trophallaxie dans cette différence a été précisée. Ainsi, la valeur de DL50 exprimée en ng/abeille dépend des conditions expérimentales. Les abeilles et *A. ervi* ayant survécu aux traitements insecticides et testés en olfactomètre, ne montrent pas ou peu de changement de comportement d'orientation vis-à-vis de l'odeur utilisée. Par contre, les abeilles recevant des DL20 et DL50 de deltaméthrine ont une capacité locomotrice réduite. Cette perturbation pourrait avoir des effets non négligeables sur les insectes auxiliaires dans un environnement pollué par les insecticides.

Assessment of insecticide treatments on beneficial Hymenoptera, the Honeybee, (*Apis mellifera* L.) and aphid parasitoids : Field and laboratory studies in Madagascar and in France respectively.

Abstract

Honeybees and aphid parasitoids may suffer from side effects of insecticides during their beneficial activity. Our objective was the risk assessment of pesticides towards these non target insects in the field and a contribution to the setting up of lethal and sublethal toxicity tests in the laboratory.

In Madagascar, we conducted an investigation to define the impact of crop protection farmers' practices on honeybees, and we conducted an experimentation to estimate the effects of a treatment on aphid parasitoids. In France, we determined the acute toxicity of deltamethrin, lambda cyhalothrin, chlorpyrifos ethyl and pirimicarb, on the honeybee and on an aphid parasitoid, *Aphidius ervi*. We analyzed some parameters responsible for the variability of lethal dose 50 (LD50) values. We also investigated the effects of the insecticides on orientation responses of the honeybee and *A. ervi*, using a common behavioral test, the four-armed olfactometer.

In Madagascar, insecticide treatment can occur during blooming and the farmers have observed negative effects on honeybee colonies. With regard to Hymenopterous parasitoids, we found out that the insecticide treatment contributes to delay their action in experimental cabbage field plots. In laboratory conditions, the toxicity varies according to the exposure route and to the active ingredient. The honeybee oral toxicity differed between collective and individual administration. The role of trophallactic interactions in the distribution of the active ingredient was evaluated. Thus, value of LD50 expressed in ng/bees varies according to the experimental conditions. The honeybees and *A. ervi* surviving the insecticide treatments showed no or little effect in their attraction responses in the four-armed olfactometer. On the other hand, in honeybees, LD20 and LD50 of deltamethrin decreased their capability to move. These perturbations might have an important effect on beneficial insects in an environment contaminated by pesticides.

Mots-clés : Insecticides- Apiculture- Agrumiculture- Chou- Pucerons- Prédateurs- Hyménoptères parasites- *Aphidius ervi*- Abeille (*Apis mellifera*)- Toxicité aiguë- Dose létale 50 (DL50)- Effet sublétales- Olfactomètre- Comportement d'orientation- Ecotoxicité- Evaluation de risques

Discipline : Protection des cultures- Ecotoxicologie

Laboratoire de Neurobiologie Comparée des Invertébrés, INRA
B.P. 23- 91440 Bures-sur-Yvette, France