

Le fluvalinate appliqué sur pommiers en pleine floraison : contamination des abeilles butineuses et des produits de la ruche

M Haouar ^{1*}, L de Cormis ¹, J Rey ²

¹INRA, station de phytopharmacie, centre de recherches d'Avignon, 84140 Montfavet

² Université de Provence, laboratoire de chimie et environnement, 3 place Victor Hugo, 13331 Marseille Cedex 3, France

(Reçu le 20 février 1989; accepté le 9 novembre 1989)

Résumé — Les auteurs se proposent d'étudier l'incidence, sur les abeilles butineuses et les produits de la ruche, d'un traitement au fluvalinate d'un verger de pommiers en pleine floraison. Aux doses recommandées pour un traitement insecticide à savoir 144 g/ha, on retrouvait 41,3 µg/g dans les fleurs de pommiers immédiatement après le traitement. Onze jours plus tard on en retrouvait encore 34,4 µg/g, soit plus de 83% du dépôt initial (tableau I). Dans les feuilles, le dépôt initial a été évalué à 3,2 µg/g. La dégradation du produit a atteint 50% au bout de 42 jours et n'a été totale qu'au bout de 88 jours (tableau II et fig 1). Le pollen ramené dans les ruches par les abeilles butineuses contenait 0,26 µg/g de fluvalinate à J+1, 0,13 µg/g à J+2 et plus de résidus à J+6. À J+1 les abeilles contenaient 0,075 µg/g de fluvalinate soit environ 0,006 µg/abeille (près de 3 000 fois moins que la DL50), 0,032 µg/g à J+4 et plus de résidus à J+7 (tableau IV et fig 2).

Un mois après le traitement, le miel récolté dans les ruches soumises à l'expérimentation ne contenait pas de résidus de fluvalinate. Les pommes cueillies en saison de récolte ne contenaient pas non plus de résidus de fluvalinate. En revanche, sur du pollen contaminé et conservé dans les conditions de la ruche, le fluvalinate persiste plusieurs mois (fig 3).

dégradation / fleurs / pollen / miel

Summary — **Fluvalinate applied to flowering apple trees : contamination of honey-gathering bees and hive products.** This study was carried out in a field of fully flowering apple trees to investigate the influence of fluvalinate treatment on honey-gathering bees and hive products. Just after treatment at recommended insecticidal doses (144 g/ha) the apple tree flowers contained 41.3 µg/g of fluvalinate and 11 d later residues were still present at the level of 34.4 µg/g which was more than 83% of the initial deposit (table I). In leaves the initial deposit was evaluated at 3.2 µg/g. The decomposition of the product reached 50% 42 d after treatment and was only complete after 88 d (table II and fig 1). Fluvalinate concentrations gathered in the pollen were 0.26 µg/g 1 d after treatment and 0.13 µg/g 2 d after treatment while no more residues could be detected at D+6. The bees contained 0.075 µg/g at D+1 about 0.006 µg/g/bee (3 000 times less than the LD50), 0.032 µg/g at D+4 and no more residues at D+7 (table IV and fig 2).

Honey collected from the hives one month after treatment did not contain residues of fluvalinate. Apples collected during the harvest season did not contain residues either. On the other hand, fluvalinate persists for several months when contaminated and conserved in hive conditions (fig 3).

decomposition / flowers / pollen / honey

INTRODUCTION

La progression très rapide à travers le monde, et plus récemment à travers la France, d'une maladie parasitaire grave affectant les abeilles *Apis mellifica* (L) inquiète les milieux apicoles. On note que plus de 80 départements sont actuellement infestés alors qu'ils n'étaient que 43 en 1982. L'agent causal est un acarien gamase *Varroa jacobsoni* (O), dont la femelle, de forme ovoïde et

de 1,4 mm de longueur, parasite le couvain et les adultes : elle se fixe entre les anneaux abdominaux au niveau des membranes intersegmentaires de l'insecte puis se nourrit de son hémolymphe. Elle peut ainsi provoquer des dégâts très importants allant jusqu'à décimer des colonies entières si aucun traitement n'intervient (Marin, 1977).

A l'heure actuelle il n'existe pas de traitement efficace à 100%. La stratégie de lutte consiste

* Correspondance et tirés à part

essentiellement à limiter la propagation de l'acarien vers les colonies avoisinantes par des traitements réguliers : c'est, en fait, de prophylaxie qu'il s'agit (Robaux, 1986). Goetz (1984) observe d'ailleurs, avec beaucoup de pessimisme, qu'il y aura toujours des butineuses égarées ou pillardes et des mâles porteurs d'acariens, qui viendront réinfester les colonies. On peut envisager des traitements avec des acaricides ayant fait leurs preuves contre les acariens phytophages puisque le parasite est lui-même un acarien. Il faut dans ce cas choisir des produits sans effet sur les abeilles (Anderson et Atkins, 1968; Johansen *et al*, 1983).

Le fluvalinate, [(RS) α -cyano-3-phénoxybenzyl N-(2-chloro, α , α , α , trifluoro-p-tolyl)-D-valinate], dont l'action antivarrua est connue depuis 1987, est un pyréthrianoïde de synthèse. L'ITAPI, l'institut technique de l'apiculture, en collaboration avec l'INRA, travaille depuis 3 ans en vue de dégager toutes les possibilités qu'il offre dans ce domaine. Cette molécule a été utilisée par les apiculteurs (sans autorisation légale) sous forme d'inserts imprégnés placés directement dans la ruche. Elle est maintenant homologuée aux USA et dans plusieurs pays européens dont la France depuis février 1989 (ND APISTAN Sandoz).

Efficace dans le traitement des végétaux contre les acariens et les insectes, cette nouvelle molécule est homologuée depuis 1985 et applicable en vergers d'arbres fruitiers en pleine floraison car non dangereuse pour l'abeille et la faune auxiliaire. Mise au point par Zoecon Corp du groupe Sandoz voici 8 ans (Fitch *et al*, 1984), son activité acaricide n'est plus à démontrer, et, si sa toxicité vis-à-vis des mammifères est relativement importante (DL 50 : 282 mg/kg par ingestion pour le rat mâle), elle est très faible à l'égard des abeilles, de l'ordre de 18 μ g/abeille (Barnavon, 1988), soit une DL50 300 fois plus grande que celle de la deltaméthrine par exemple, un autre pyréthrianoïde. L'originalité et l'intérêt de notre expérimentation tiennent au fait que le traitement acaricide n'est pas directement dirigé dans les ruches, mais est effectué dans le verger en pleine floraison où viendront butiner les abeilles.

Les acariens phytophages et éventuellement les insectes tels que le carpocapse, les mineuses, les tordeuses de la pelure et autres pucerons parasitant le verger pourront être ainsi éliminés en priorité, le varroa installé dans les ruches n'étant qu'indirectement atteint par la voie du pollen contaminé que les abeilles prélèvent dans le verger et apportent à la ruche pour nourrir le couvain. Si son efficacité contre *varroa* se confirmait, le produit devrait cependant n'être présent qu'en des quantités inoffensives pour

l'abeille aussi bien sur les insectes que dans le pollen. En outre, il serait souhaitable que sa dégradation soit progressive pour permettre une bonne efficacité et suffisamment rapide pour ne pas présenter de problème de contamination des ruches à trop long terme.

Dans cette expérimentation, l'étude de la cinétique de dégradation du produit revêt dès lors une très grande importance. Ainsi nous nous proposons, dans un premier temps, de suivre ainsi rigoureusement que possible la dégradation du produit, de façon à avoir une idée précise de sa persistance dans tous les substrats concernés, abeilles, pollen, miel, mais aussi les végétaux (fleurs, feuilles et fruits), et de pouvoir en évaluer les taux de résidus à tout moment de l'expérimentation.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Expérimentation

Les essais ont été réalisés dans un verger de pommiers de la variété Golden delicious de 3 ha d'un seul tenant dans la commune du Thor dans le Vaucluse. Dix ruches de 10 cadres ont été déposées à une quinzaine de mètres d'intervalle les unes des autres le long d'une haie de cyprès à l'intérieur du verger.

Un autre verger de 2 ha de la même variété de pommiers et distant d'une dizaine de km du précédent, dans lequel on été déposées 5 ruches, nous a servi de témoin. Toutes les ruches étaient équipées d'une trappe à pollen. Ces trappes nous permettaient de recueillir, à des fins d'analyse, le pollen ramené quotidiennement par les butineuses. Le traitement a été effectué le 22 avril 1988 vers 19 h 30 après que l'on a eu procédé au prélèvement avant traitement en ce qui concerne le pollen et les abeilles. Les échantillons de feuilles et de fleurs ont été prélevés juste après le traitement pour quantifier le dépôt initial. Tous les autres prélèvements avant et après traitement ont été effectués entre 18 et 19 h du début jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les abeilles ont été prélevées directement sur un cadre pris au hasard après ouverture de la ruche et recueillies dans des bocaux en verre. Les échantillons ne pesant pas moins de 10 g (environ 115 insectes) ont été conservés au congélateur avant analyse.

Pour le prélèvement du pollen, les trappes en forme de tiroir ont été ouvertes et vidées complètement dans des sacs en plastique. Après homogénéisation, on y a prélevé 10 g seulement pour analyse. Les feuilles et les fleurs ont été cueillies au hasard dans le verger. Les échantillons (au nombre de 2 par verger) qui ne pesaient pas moins de 10 g ont été mis dans des sacs en plastique et conservés au congélateur.

Les échantillons de pommes ont été prélevés le 20 juillet, au hasard dans le verger quelques jours avant la récolte, et étaient constitués d'une douzaine de fruits par échantillon. Le miel a été prélevé 1 mois après le traitement et recueilli dans des bocaux en verre. Les échantillons pesaient environ 100 g, mais

seulement 10 g nous ont été nécessaires pour l'analyse.

Deux litres de Klartan titrant 240 g de fluvalinate par litre ont été nécessaires au traitement des 3 hectares, soit 144 g de matière active par hectare, dose homologuée contre le carpocapse, la mineuse et la tordeuse de la pelure sur pommiers dans le cadre d'un traitement insecticide.

Bien entendu, chaque prélèvement était fait de la même façon dans le verger traité et dans le verger témoin.

Analyse

La méthode d'analyse est dérivée de celle publiée par Fitch (1984). Les extractions ont été effectuées par broyage en présence d'un mélange acétone-hexane 1/1 (v/v) pour les échantillons végétaux et les abeilles, puis filtration sur büchner garni d'hyflo-superpel. La purification a été faite, dans une première étape par partage acétonitrile-hexane 3/1 (v/v), ensuite recueil de l'acétonitrile et extraction par l'hexane en présence d'eau salée et, dans une deuxième étape par élution avec un mélange hexane-éther 9/1 (v/v) de l'extrait évaporé à sec puis repris par de l'hexane et passé sur une colonne de florisil «cassé» à 2% d'eau. Pour atteindre une bonne purification, comme dans le cas du pollen et des feuilles, seule une fraction de l'extrait équivalente à 2 g est passée sur la colonne de florisil pour la phase *clean up*, ce qui a fait diminuer la sensibilité par rapport aux autres substrats. Quant au miel, il a d'abord fallu le dissoudre dans de l'eau tiède puis extraire la fraction intéressante avec de l'hexane. Cet extrait a ensuite été traité comme un végétal.

Les analyses elles-mêmes ont été effectuées avec un chromatographe en phase gazeuse de marque Gir-del modèle 3 000 équipé d'un détecteur à capture d'électrons et d'une colonne de 120 cm de long remplie à 5% de DC 200.

Le débit du gaz vecteur, l'azote en l'occurrence, a été de 120 mL/min. Les différentes températures ont été de 240 °C pour la colonne, 260 °C pour l'injecteur et 290 °C pour le détecteur. La sensibilité, comme c'est généralement le cas lorsqu'on utilise un détecteur à capture d'électrons (Tranchant, 1982), a été excellente; la limite de détermination allait de 10^{-2} µg/g, pour les feuilles et le pollen, à 2.10^{-3} µg/g pour les abeilles, les pommes, le miel et les fleurs.

Les prélèvements ont porté sur les fleurs de pommier (7 prélèvements, car au-delà du 11^e jour, il n'y avait plus de pétales en quantité suffisante pour l'analyse), sur les feuilles (13 prélèvements destinés à suivre une cinétique de dégradation du produit jusqu'à près de 3 mois après application) sur le pollen ramené à la ruche (6 prélèvements) et sur abeille (7 prélèvements). Une récolte de miel a été faite dans l'ensemble des ruches 1 mois après le traitement. Pour

chaque type de substrat, le prélèvement témoin, en particulier celui effectué avant traitement, est destiné à déterminer la validité de la méthode analytique utilisée : pour chaque substrat, on détermine le taux de récupération de la molécule ajoutée en quantité connue avant le broyage de l'échantillon. Si ce taux est supérieur à 80%, on considère que la méthode est utilisable.

Dans le cas présent, les taux de récupération avoisinaient ou dépassaient 95%.

RÉSULTATS

Dégradation du fluvalinate

Dans les fleurs

Nous n'avons trouvé de résidus dans aucun des échantillons prélevés dans la parcelle témoin (voir tableau I).

Le traitement n'a été effectué que lorsque plus de 50% des fleurs formées étaient ouvertes ; cela nous a permis d'assurer un butinage maximal du verger dès les premiers jours suivant le traitement et par conséquent une bonne contamination des abeilles par le produit. Notons que le 24 avril, soit à J+2, nous avons eu une averse qui n'a cependant pas dû avoir de conséquence sur le traitement, car plus tard, nous avons retrouvé des résidus prouvant qu'il n'y avait pas eu de lessivage notable aussi bien dans les fleurs que dans les feuilles. En revanche, l'expérimentation n'a pu se poursuivre au-delà du 11^e jour après le traitement, car les pétales de fleurs devenaient rares et ne permettaient plus de constituer des échantillons suffisants à analyser. A ce moment la dégradation était à peine de 17% par rapport au dépôt initial (tableau I).

Dans les feuilles

Les échantillons prélevés dans la parcelle témoin ne contenaient pas de résidus (tableau II). La quantité de résidus trouvée dans les feuilles traitées est environ 13 fois moindre que celle trouvée dans les fleurs ; cela s'explique par le fait que pour une même surface traitée les feuilles pèsent plus lourd que les fleurs, la quantité de résidus s'exprimant par rapport au poids du végétal frais.

Tableau I. Dégradation du fluvalinate dans les fleurs (résidus en µg/g; LD : limite de détection).

| | J+0 | J+1 | J+3 | J+5 | J+7 | J+9 | J+11 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Parcelle traitée | 41,40 | 40,60 | 38,45 | 38,20 | 37,35 | 36,90 | 34,40 |
| Parcelle témoin | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD |

Tableau II. Dégradation du fluvalinate dans les feuilles.

| | J+0 | J+1 | J+3 | J+5 | J+9 | J+11 | J+14 | J+21 | J+28 | J+35 | J+56 | J+74 | J+88 |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Parcelle traitée | 3,20 | 3,06 | 2,96 | 2,88 | 2,78 | 2,69 | 2,54 | 2,22 | 2,04 | 1,89 | 0,92 | 0,34 | LD |
| Parcelle témoin | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD |

Nous trouvons que la demi-vie est légèrement inférieure à 6 semaines, la limite de détection étant atteinte au bout de 13 semaines (fig 1).

Dans les pommes

Dans tous les échantillons de pommes cueillies le 20 juillet, nous n'avons trouvé aucune trace de fluvalinate, la limite de détection ayant été de 2.10^{-3} µg/g.

Dans le pollen

Le pollen prélevé dans les 5 ruches témoin ne contenait pas de résidus de fluvalinate. Le dépôt initial dans le pollen provenant des ruches dépo-

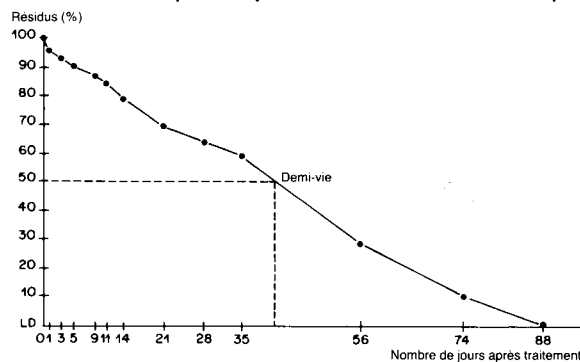


Fig 1. Dégradation du fluvalinate dans les feuilles de pommiers.

sées dans la parcelle traitée était 12 fois moindre que dans les feuilles, soit de 0,26 µg/g, toujours pour les mêmes raisons, à savoir que pour une même surface atteinte par le produit, le pollen est plus lourd que les feuilles qui elles-mêmes sont plus lourdes que les fleurs. La limite de détection a été atteinte au bout du 6^e jour (tableau III), la demi-vie ayant été atteinte au bout du 2^e.

Dans le miel

Nous avons procédé à des analyses du miel prélevé 1 mois après le traitement dans les 15 ruches ayant servi à l'expérimentation et nous n'avons trouvé de résidus dans aucun des échantillons à la limite de détection de 2.10^{-3} µg/g.

Dans les abeilles

Les résultats d'analyse des 10 échantillons de 10 g provenant des ruches «traitées» à J+1, nous ont révélé (tableau IV) que les abeilles contenaient 0,075 µg/g de fluvalinate (avec une erreur type de 0,008), soit 6.10^{-3} µg/abeille (près de 3 000 fois moins que la DL50 déterminée par Barnavon (1988). Au bout de 7 jours, nous n'avons pas retrouvé trace du produit (fig 2).

Tableau III. Dégradation du fluvalinate dans le pollen ramené dans les ruches.

| | J+1 | J+2 | J+3 | J+4 | J+5 | J+6 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Parcelle traitée | 0,262 | 0,138 | 0,075 | 0,028 | 0,005 | LD |
| Erreur type | 0,006 | 0,008 | 0,007 | 0,007 | 0,003 | - |
| Parcelle témoin | LD | LD | LD | LD | LD | LD |

Tableau IV. Dégradation du fluvalinate dans les abeilles.

| | J+1 | J+2 | J+3 | J+4 | J+5 | J+6 | J+7 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Parcelle traitée | 0,075 | 0,072 | 0,052 | 0,032 | 0,020 | 0,007 | LD |
| Erreur type | 0,008 | 0,006 | 0,007 | 0,005 | 0,003 | 0,002 | - |
| Parcelle témoin | LD | LD | LD | LD | LD | LD | LD |

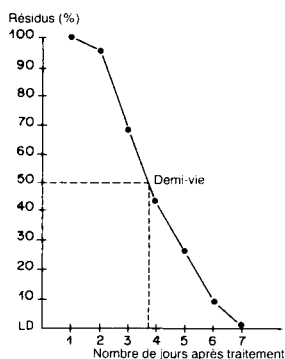


Fig 2. Dégradation du fluvalinate dans les abeilles.

DISCUSSION

Les résultats d'analyse des fleurs et des feuilles de pommiers confirment les travaux de Quistad (1982, 1984) à savoir que le fluvalinate a une demi-vie de plus de 6 semaines dans les feuilles et fruits de tomate, soit la même que celle que nous avons observée dans les feuilles de pommier.

Dans les abeilles, la quantité trouvée est infime. De plus, la biodégradation est très intense, et au bout de 7 jours on ne retrouve plus rien dans les insectes.

Dans le pollen analysé, nous avons atteint assez rapidement la limite de détermination, soit au bout de 6 jours ; ce résultat correspond-il à une dégradation du produit de traitement ou bien simplement à une « dilution » du pollen contaminé par du pollen non traité provenant du verger ou de fleurs de vergers voisins ?

Pour lever le doute, nous avons procédé à une étude en laboratoire de conservation de pollen traité, à l'obscurité et à 35 °C (conditions très proches de celles qui règnent dans une ruche). La concentration initiale du fluvalinate était de 0,5 µg/g de pollen, la demi-vie a été trouvée supérieure à 4 semaines tandis que la dégradation complète n'était obtenue qu'au-delà de 6 mois (fig 3).

Si au bout du 6^e jour, le pollen ramené à la ruche ne contient plus de résidu de fluvalinate, c'est que très vraisemblablement il n'a pas été

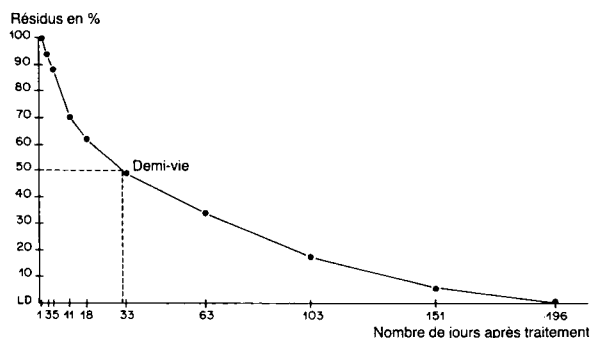


Fig 3. Dégradation du fluvalinate dans le pollen stocké à 35 °C.

contaminé. Ou bien, il ne l'a pas été parce que les fleurs n'étaient pas ouvertes lors du traitement (le fluvalinate est un produit peu ou pas pénétrant et sans tension de vapeur), ou bien il provient d'autres fleurs visitées par les butineuses parce que plus attractives ces jours-là. La concurrence des fleurs non contaminées peut donc être très forte à cette période de l'année.

Dans l'hypothèse où cette concurrence est faible, une rémanence du fluvalinate dans le pollen pourrait avoir des répercussions néfastes pour le couvain, les ouvrières et la reine, mais on pourrait aussi bien obtenir une action bénéfique pour la colonie dans la mesure où le produit ainsi introduit dans la ruche élimine totalement les varroas. Des études biologiques seraient indispensables pour répondre à ces 2 questions. Il est donc permis de supposer que le fluvalinate pulvérisé en verger est potentiellement utilisable pour lutter contre le parasite. Cependant, une telle méthode indirecte risque de s'avérer partiellement inefficace pour débarrasser des varroas les ruches emmenées dans le verger, et l'apiculteur qui déplace ses abeilles sur des arbres fruitiers en fleurs avant un traitement au fluvalinate ne peut avoir la garantie de l'efficacité intégrale contre *varroa*.

En revanche, si l'on se réfère à nos résultats, le risque de contamination des produits de la ruche est certainement très inférieur à celui qui est consécutif à l'utilisation d'inserts permanents de fluvalinate surtout s'il s'agit d'inserts artisanaux. Cette estimation des risques était d'ailleurs l'objectif principal de notre étude.

RÉFÉRENCES

- Anderson LD, Atkins EL (1968) Pesticide usage in relation to beekeeping. *Ann Rev Entomol* 13, 213-238
- Barvanon M (1988) Expérimentation en laboratoire et en plein champ du fluvalinate. *Def Veg* 243, 43-46
- Fitch WL, Helisten CC, Wiser IM, Miller WW (1988) Fluvalinate. *Anal Methods, Pestic Plant Growth Regul* 13, 79-102
- Goetz C (1984) Une année avec la Varroatose dans le Bas-Rhin. *Fruits et abeilles* 2, 43-46
- Johansen CA, Mayer DF, Eves JD, Kious CW (1983) Pesticides and bees. *Environmental Entomol* 12, 151-158
- Marin M (1977) Diagnostic et traitement de la varroatose. La varroatose, maladie de l'abeille mellifère. *Apimondia* 18-21
- Quistad GB, Staiger LE, Mulholland KM, Schooly DA (1982) Plant metabolism of fluvalinate. *J Agric Food Chem* 32, 1 134-1 138
- Quistad GB et Staiger LE (1984) Photodegradation of fluvalinate. *J Agric Food Chem* 30, 888-895
- Robaux P (1986) Varroa et varroatose. *OPIDA*, 238 p
- Tranchant J (1982) *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*. Masson, Paris, 504 p