

Sous la direction de
CLAUDE COLLET,
JEAN-CHRISTOPHE SANDOZ
et PIERRE CHARNET

LES ABEILLES FACE AU RISQUE TOXIQUE



Les abeilles face au risque toxique

Sous la direction de Claude Collet,
Jean-Christophe Sandoz et Pierre Charnet

Les abeilles face au risque toxique

CNRS ÉDITIONS

15, rue Malebranche – 75005 Paris

Sommaire

Préface.....	9
Introduction.....	13

Partie 1

Comportement de l'abeille domestique et sensibilité aux insecticides

Chapitre 1. Prolégomènes à la biologie des abeilles.....	23
Chapitre 2. Abeilles : une diversité au-delà de l'abeille mellifère.....	37
Chapitre 3. La colonie d'abeilles : un système complexe et fragile.....	43
Chapitre 4. Pheromones et régulations sociales chez les abeilles domestiques.....	65
Chapitre 5. Les abeilles et la pollinisation pavent le chemin vers la transition agroécologique	77
Chapitre 6. Réglementation avant la mise sur le marché des pesticides : vers l'évaluation des effets des doses sublétales sur le comportement des abeilles.....	85
Chapitre 7. Nouveaux tests toxicologiques sur les larves d'abeilles : observations sur la mortalité et le comportement.....	95
Chapitre 8. Les effets des insecticides neurotoxiques sur la marche chez l'abeille domestique	107
Chapitre 9. Les effets des pesticides sur l'orientation des abeilles.....	147
Chapitre 10. Modes d'action neurotoxiques, cardiotoxiques et myotoxiques des insecticides chez l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i>	159

Partie 2

Les acteurs moléculaires : enjeux pour demain

Chapitre 11. Application de la génomique à l'étude de la toxicité des insecticides chez l'abeille domestique.....	201
Chapitre 12. Les canaux potassiques.....	211
Chapitre 13. Les canaux sodiques dépendant du voltage et leurs sensibilités aux agents neurotoxiques.....	243
Chapitre 14. Les canaux calciques voltage-dépendants.....	259
Chapitre 15. Les récepteurs nicotiniques.....	279
Chapitre 16. Les récepteurs GABA.....	295
Chapitre 17. Canaux calciques intracellulaires (RyR).....	321
Conclusion. Les enjeux sont sur la table.....	347

Annexes

Annexe 1 : Les techniques de biologie moléculaire.....	353
Annexe 2 : Les techniques d'électrophysiologie	371
Bibliographie.....	385
Auteurs.....	441
Table des matières	443

Préface

C'est à plusieurs titres qu'il faut s'inquiéter du déclin des abeilles, des pollinisateurs, et des arthropodes en général. Le phénomène est bien sûr préoccupant en lui-même, du fait des risques qu'il fait peser sur la stabilité des écosystèmes et la productivité biologique de l'environnement, en particulier dans les paysages de basse altitude dominés par les activités humaines. Mais il inquiète aussi du fait de sa singularité épistémologique : pour la première fois, le *vulgum pecus* constate – c'est le fameux « syndrome du pare-brise propre » – les effets tangibles et sévères d'un grave problème environnemental avant même que l'ensemble des communautés savantes potentiellement impliquées ne s'accordent sur l'importance, les causes majeures ou même la réalité du phénomène. Depuis le milieu du xx^e siècle, les grands périls environnementaux ont généralement été anticipés, détectés, analysés et attribués par la communauté scientifique avant qu'ils ne commencent à devenir clairement perceptibles par la population. Avant, en tout cas, qu'ils ne deviennent irréversibles et irréparables. Dans les années 1960, limnologues, écologues et physico-chimistes de l'environnement établissent un lien fort entre les émissions industrielles de dioxyde de soufre et la formation des pluies acides de même que la sévérité de leurs effets. Ils ouvraient ainsi la voie à une série de mesures réglementaires et de traités internationaux pour endiguer le phénomène. Une décennie plus tard, c'est la communauté des chimistes de l'atmosphère qui met en évidence un amincissement alarmant de la couche d'ozone stratosphérique, en lien avec les chlorofluorocarbures, des gaz propulseurs et réfrigérant, pavant la voie vers le protocole de Montréal (Canada). C'est aussi à cette époque que se forme un consensus fort, au sein de la petite communauté des physiciens de l'atmosphère, sur l'inéluctabilité d'un réchauffement climatique

dangereux dû aux émissions humaines de gaz à effet de serre – un constat posé plus d’une décennie avant qu’une augmentation de la température moyenne mondiale ne devienne effectivement détectable.

Dans le cas du déclin des abeilles et des pollinisateurs, l’alerte n’est pas venue du monde savant mais de la société civile. Les premiers rapports d’experts sur le sujet, en particulier ceux, dès 2003, du Comité scientifique et technique de l’étude multifactorielle des troubles des abeilles (Comité Scientifique et Technique de l’Étude Multifactorielle des Troubles des Abeilles, 2003) ont vite été oubliés et, en définitive, plus de deux décennies se sont écoulées entre les premiers signalements des apiculteurs français systémiques, et la publication du premier rapport d’autorité sur le sujet, endossé par l’ensemble des académies des sciences européennes (EASAC, 2015) et confirmant bien au-delà d’*Apis mellifera* les effets délétères des nouvelles générations d’insecticides. Dans les années 1990, les nouveaux usages agricoles de ces substances – utilisées en enrobage de semences, en prophylaxie, sur des millions d’hectares de grandes cultures – n’avaient fait l’objet d’aucune inquiétude ou réticences des institutions scientifiques ou des organismes d’expertise. L’explication tient pour une grande part à l’investissement historiquement faible dans la recherche sur la toxicologie de l’abeille, au hiatus entre l’évaluation standardisée des risques par les autorités et la démarche académique, à l’influence des firmes agrochimiques sur le cadrage de l’expertise réglementaire, mais aussi sur les médias et la conversation publique.

L’hyperspécialisation de la pratique scientifique et la fragmentation du savoir sont, aussi, des obstacles majeurs à la pleine compréhension du phénomène, voire à la prise de conscience qu’il existe bel et bien. Entomologistes, biologistes de la conservation, toxicologues et écotoxicologues, apidologues, chimistes, agronomes, biologistes moléculaires : chacune de ces communautés détient une part des réponses aux questions posées par le déclin des insectes et par la part qu’y prennent les produits phytosanitaires en général et les nouvelles technologies de protection des cultures en particulier. Il n’est aujourd’hui plus question d’alerter, mais de constater et d’expliquer. Or il est encore fréquent que les liens étroits entre le développement des insecticides systémiques et le déclin de différents compartiments de l’entomofaune soient ignorés ou minimisés, que ce soit dans les communications de

sociétés savantes ou dans la littérature scientifique (ESA, 2015 ; van Klink *et al.*, 2020). Comme sur d'autres sujets, l'argument de la multifactorialité – bien réelle – est toujours susceptible de diluer la perception de certains risques.

De même que l'hyperspécialisation de la pratique scientifique a retardé la prise de conscience des dangers présentés par les nouvelles générations d'insecticides systémiques, elle tend à banaliser, aujourd'hui, le recours à ces nouvelles technologies de protection des cultures. Leurs dangers sont toujours globalement sous-estimés. Des travaux récents, conduits au Japon, permettent d'en donner la pleine mesure et, incidemment, de comprendre toute l'importance du présent volume. Dans la préfecture de Shimane, l'introduction en 1993 de l'imidaclopride en traitement de semences a provoqué, à l'exclusion de tout autre facteur, un effondrement radical de la plus grande pêcherie lacustre de la région. En à peine plus d'une seule année, l'utilisation d'une centaine de kilos d'imidaclopride sur une zone administrative de 6 700 kilomètres carrés, a suffi à détruire la grande part du zooplankton du lac Shinji, entraînant un effondrement abrupt des captures de deux espèces commerciales emblématiques (soit plusieurs dizaines à plusieurs centaines de tonnes par an), inféodées à ces organismes aquatiques (Yamamuro, 2019).

Cette situation où, sur un sujet complexe en lien avec des problématiques socio-économiques, certaines communautés savantes semblent aveugles à des corpus de connaissances pourtant adjacents à ceux qu'elles contribuent à produire, n'est pas nouvelle. En 2010, devant le constat que la parole climatosceptique parvenait, hors des cercles académiques compétents, à prendre racine jusqu'aux plus hautes sphères de l'*establishment* scientifique français, le CNRS avait suscité la rédaction d'un ouvrage collectif, pluridisciplinaire, dont l'ambition était de détailler les instruments, les méthodes et les résultats majeurs des sciences du climat (Jeandel et Mosseri, 2011). Le pari était de convaincre de la réalité du réchauffement anthropique le lecteur armé d'une solide formation scientifique mais non nécessairement spécialiste du sujet.

De la même manière, l'ouvrage que vous tenez entre vos mains a pour ambition de synthétiser, de rassembler et de mettre en cohérence des connaissances issues de discipline éloignées, sur un sujet aux fortes implications socio-économiques. Il n'est pas surprenant qu'ils soient le fait de chercheurs français. Au cours

des quinze dernières années, les instituts techniques, les universités et les organismes de recherche tricolores ont joué un rôle central dans la production de la connaissance sur le sujet. Exploration des effets synergiques entre pathogènes de l'abeille et insecticides neurotoxiques, mise en évidence de leur toxicité chronique et description de leurs effets sublétaux, mise au point de nouvelles techniques expérimentales de suivi des abeilles et de nouveaux tests d'évaluation des risques, exploration moléculaire des mécanismes d'action : c'est en France que la communauté scientifique a su le mieux mettre en place un dialogue pluridisciplinaire, et s'auto-organiser pour répondre aux questions posées par le développement des nouvelles générations d'insecticides. Et ce n'est pas un hasard si c'est en France qu'ont été prises les premières mesures d'interdiction fondées sur le mode d'action de ces substances.

Ce volume se situe dans cette continuité. Il est destiné aux étudiants, aux chercheurs et aux enseignants mais aussi aux évaluateurs et aux gestionnaires du risque, aux membres des administrations publiques impliquées dans la réglementation des toxiques. Voire, pourquoi pas, aux journalistes. Rassembler le savoir, lui donner du sens et le rendre accessible à ses pairs et à la société : ce sont parmi les nobles missions du personnel scientifique, en particulier sur une question aussi cruciale et controversée que celle abordée dans les pages qui suivent. Parce que les choix de société doivent être éclairés par la connaissance, il n'est pas exagéré de dire que cet ouvrage fait aussi œuvre démocratique.

Stéphane Foucart

Le Monde

Service Planète/Science – *Environment/Science desk*

Introduction

Pierre Charnet, Claude Collet et Jean-Christophe Sandoz¹

Partout dans le monde, les apiculteurs envoient des signaux d'alarme. Les mortalités anormales et inexplicables qu'ils ont identifiées dans leurs cheptels ont très tôt préfiguré le déclin généralisé des insectes, qui est maintenant scientifiquement étayé et avéré (Jactel *et al.*, 2020). Au plus près de leurs colonies, ils ont en effet été aux premières loges pour identifier chez l'espèce semi-sauvage *Apis mellifera* ce qui semble être une tendance généralisée, non seulement parmi les pollinisateurs mais plus généralement chez les arthropodes.

Ce livre est focalisé sur l'une des principales menaces qui pèse sur les abeilles, à savoir les molécules neurotoxiques, très utilisées en agriculture mais aussi dans les élevages animaux et en usage domestique. Les auteurs ayant contribué à ce livre reviennent notamment sur les effets néfastes des insecticides et acaricides neurotoxiques sur le comportement des abeilles domestiques, car ces données constituent une avancée majeure de la toxicologie. Ainsi, si les tests de toxicologie classique (mesure de la mortalité après une exposition aiguë) restent la base de l'évaluation de la nocivité des insecticides sur les abeilles (sur les larves et les adultes), l'évaluateur ne peut plus occulter la nécessité d'une observation fine du comportement, qui met en évidence des effets très délétères à des niveaux d'exposition faibles et chroniques. Ce livre fait également état de la caractérisa-

1. Pierre Charnet, Claude Collet et Jean-Christophe Sandoz ont bénéficié de financements émanant de l'Agence Nationale de la Recherche (Bee-channels, ANR-13-BSV7-0010 ; Bee-O-Choc, ANR-17-CE20-0003 et Synaptic-Bee (ANR-20-CE34-0017) et Pesti-Penta (ANR-21-CE11-0016), du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (France Agrimer, Ecophyto 2018) et de leurs organismes scientifiques de tutelle INRAE, INSERM, CNRS et Université de Montpellier.

tion plus récente encore des mécanismes d'action des insecticides chez *Apis mellifera*, donnant des perspectives pour une meilleure anticipation des symptômes d'intoxication. À ce titre, le séquençage du génome d'*Apis mellifera* a levé un verrou scientifique et technologique, conduisant à l'invention/mise au point de nouveaux outils de biologie moléculaire et de toxicologie cellulaire *in vitro*.

À l'heure où des technologies de biologie moléculaire controversées ont déjà été utilisées à l'encontre du respect de l'éthique et la déontologie humaine (des embryons humains modifiés génétiquement par la méthode CRISPR/Cas9), certains rêvent de sélectionner une « abeille domestique résistante aux insecticides ». Une telle stratégie s'avérerait désastreuse car elle n'aurait pour conséquence que de légitimer une utilisation toujours plus intense des insecticides. Utilisée à bon escient, la biologie moléculaire permet de mieux comprendre et mieux protéger les abeilles. Nous espérons que ce livre pourra sensibiliser les lecteurs du grand public à la nécessité de poursuivre les avancées toxicologiques et qu'il pourra aiguiller les évaluateurs institutionnels et les décideurs vers une meilleure caractérisation des effets des insecticides sur les insectes.

Du point de vue scientifique, l'abeille commune *Apis mellifera* est un insecte semi-domestique qui représente un modèle de grande valeur pour les recherches en biologie, en particulier du fait de son statut d'espèce sociale. Depuis plus d'un siècle, l'observation méticuleuse de son comportement individuel et de celui de la colonie a donné lieu à la découverte et à la caractérisation de nouveaux modes de perception de l'environnement, de processus de communication interindividuelle, de mécanismes d'orientation dans l'espace ou de capacités cognitives (Backhaus *et al.*, 1987 ; Menzel et Mercer, 2012 ; Winston, 1987). Le décryptage récent du génome d'*Apis mellifera* a décuplé les possibilités d'exploration de ces processus en permettant de les approcher par une meilleure connaissance des nombreux gènes impliqués et de leurs interactions. Avec plusieurs dizaines de milliers d'abeilles produits dans chaque colonie, l'élevage de cette espèce permet d'obtenir un nombre presque illimité d'individus à toute période de l'année, ce qui facilite grandement les études scientifiques, notamment physiologiques, génétiques, éthologiques, ou toxicologiques. En particulier, la division du travail (polyéthisme) au sein de la colonie rend l'observation des comportements individuels et collectifs particulièrement attrayante. Cette espèce bénéficie de surcroît d'une *aura* très positive dans la population, qui apprécie le miel qu'elle fournit et le « service de

INTRODUCTION

pollinisation » qu'elle rend. À ce titre, du point de vue écologique, *Apis mellifera* est parfois qualifiée d'« espèce sentinelle de l'environnement » et c'est tout d'abord chez cette espèce que le déclin des insectes a été perçu de la manière la plus prégnante (Biesmeijer *et al.*, 2006 ; Hallmann *et al.*, 2017 ; Potts *et al.*, 2010 ; Seibold *et al.*, 2019). En France, près de 1,4 million de ruches et 55 000 apiculteurs ont été recensés (sources : France Agrimer et ADA France). Grâce à l'acuité et à l'intuition des apiculteurs, qui ont su scruter le comportement de leurs cheptels et évaluer avec précision la santé de leurs ruchers, les mortalités dans les colonies d'abeilles domestiques ont été largement relayées dans la presse ces dernières années. Les niveaux de mortalité anormalement élevés observés dans les ruchers partout dans le monde ont clairement contribué à alerter l'opinion publique sur la santé de l'environnement (Biesmeijer *et al.*, 2006 ; Hallmann *et al.*, 2017 ; Potts *et al.*, 2010 ; Seibold *et al.*, 2019). Les apiculteurs avaient tout d'abord fait intuitivement le lien entre insecticides et mortalités. Mais graduellement, les origines des mortalités dans les ruchers d'*Apis mellifera* ont été qualifiées de « plurifactorielles », impliquant notamment des parasites comme l'acarien varroa, des prédateurs comme le frelon asiatique, des virus, les pesticides (insecticides, fongicides, herbicides), les carences alimentaires et même le réchauffement climatique ou la compétition interspécifique pour les ressources. Cependant, force est de constater que le déclin généralisé des insectes ne peut être attribué à ces « facteurs multiples », qui pour beaucoup sont liés à la seule espèce *Apis mellifera*. Ainsi, l'acarien varroa ne parasite que les colonies d'abeilles domestiques car son cycle reproducteur dépend de manière exclusive de son hôte. Si le frelon asiatique fait peser une forte pression sur les colonies d'abeilles c'est en grande partie du fait de la densité de population présente dans les ruchers d'apiculture intensive, où il trouve une ressource abondante riche en protéines et en sucres. Les abeilles solitaires qui représentent la majorité des espèces d'abeilles sont quant à elles *a priori* beaucoup moins sujettes à ce facteur de pression. La même remarque peut être faite vis-à-vis des virus, qui se retrouvent avec une prévalence parfois forte dans les ruchers d'abeilles domestiques i) à cause de la présence du varroa qui joue le rôle de vecteur/incubateur viral et surtout ii) la promiscuité existant au sein des populations d'abeilles domestiques, qui est clairement une source d'épidémies dans tous les types d'élevages intensifs. Il faut donc retenir que le comportement et la survie d'*Apis mellifera* peuvent être altérés par ces bioagres-

seurs spécifiques, mais que la plupart des autres pollinisateurs n'y sont pas soumis. Les insecticides constituent en revanche un facteur de pression qui s'exerce autant sur les abeilles domestiques que sur les espèces d'abeilles sauvages (plus de 20 000 espèces d'abeilles dans le monde) et plus généralement sur les pollinisateurs (syrphes, lépidoptères, coléoptères...). En Europe, la base de données Eurostat comptabilise les volumes de pesticides utilisés chaque année. À titre d'exemple, la France, l'Espagne, l'Italie et l'Allemagne sont quatre pays qui consomment à eux seuls la majorité des pesticides (79 %) et qui représentent environ la moitié des surfaces agricoles (46 %) en Europe (European Commission, 2019). Si l'on s'intéresse au cas de la France, plus de 2 millions de kg d'insecticides sont utilisés annuellement sur environ la moitié des surfaces Françaises (~ 28 millions de hectares sont dédiées aux cultures – hors sylviculture – sur le territoire de la France métropolitaine, qui compte 54 millions d'hectares d'après la base de données Eurostat). Ainsi, même si le déclin des insectes, et en particulier des pollinisateurs, peut mettre en jeu différents facteurs, l'utilisation massive des insecticides au niveau mondial nécessite une analyse particulièrement sérieuse de leurs effets, afin de guider les choix des décideurs. Des décisions politiques fortes ont déjà été prises, avec des restrictions d'usage pour quelques insecticides en France et en Europe (Commission européenne, 2018). Cependant, dans le contexte agricole actuel, ces restrictions conduisent mécaniquement à l'augmentation d'usage d'insecticides de remplacement, potentiellement aussi nocifs pour les abeilles.

Du point de vue réglementaire, malgré l'importance de la pollution de l'environnement et les avancées scientifiques en matière de toxicologie (l'étude des effets toxiques des substances naturelles ou de synthèse), les méthodes de toxicologie officielles demeurent rudimentaires chez les abeilles domestiques. Ainsi, bien que l'on sache désormais appréhender la toxicité à des doses faibles et chroniques, les tests réglementaires effectués sur la plupart des insecticides neurotoxiques reposent pour l'essentiel sur une simple quantification de la mortalité après exposition à une dose aiguë (OCDE). *A fortiori*, chez la plupart des espèces d'insectes, la toxicologie reste très peu développée, voire inexistante. En observant la littérature scientifique, on s'aperçoit que le domaine de l'écotoxicologie représente seulement 5 % des publications scientifiques internationales sur les abeilles (Savajol *et al.*, 2014). La légère inflexion qui semble cependant s'être amorcée, donne

INTRODUCTION

de l'espoir quant à une meilleure prise en compte de l'impact des insecticides sur la santé des abeilles à l'avenir.

La présentation qui est faite par les médias de la toxicité des insecticides est souvent parcellaire, et les mécanismes qui sont à la base de cette toxicité ne sont jamais abordés que sous le terme générique *du problème des abeilles*. La société civile s'est pourtant fortement impliquée dans la prise en compte de ce problème alors que les informations dont elle dispose ne sont très souvent que fragmentaires. Les auteurs de cet ouvrage pensent que leurs travaux sur les mécanismes toxicologiques par lesquels les insecticides affectent les insectes doivent pouvoir être mis à la disposition des différents acteurs du débat actuel, sous une forme synthétique. Ils ont ainsi souhaité regrouper une somme d'information aussi complète que possible sur les effets des insecticides neurotoxiques sur les abeilles.



Figure 1 – Des capacités altérées par les insecticides, même à faible dose : la marche, le vol et l'apprentissage.

La première partie de ce livre sera dédiée à une meilleure connaissance de l'extraordinaire biologie des abeilles et décrira les divers effets connus des insecticides neurotoxiques. Le premier chapitre retrace les origines de l'éthologie expérimentale chez *Apis mellifera* (chapitre 1). *Apis mellifera* est un modèle de choix en biologie et en toxicologie, mais ce n'est qu'une espèce d'abeilles parmi les 20 000 qui ont été dénombrées dans le monde ; le deuxième chapitre fera état de cette fabuleuse diversité (chapitre 2). Dans les deux chapitres suivants, la structure sociale de la colonie d'abeilles domestiques, ses modes de communication interindividuelle et les comportements des différentes

castes d'abeilles sont décrits et expliqués (chapitres 3 et 4). Le chapitre suivant évoquera la complexité du contexte environnemental biotique et abiotique pour *Apis mellifera* et le contexte institutionnel des recherches sur les abeilles en France (chapitre 5). Les limites actuelles des méthodes toxicologiques réglementaires seront le sujet du sixième chapitre (chapitre 6), pointant ainsi les lacunes et avancées nécessaires en matière d'étude du comportement (EFSA, 2013). Le chapitre suivant décrira les évolutions possibles de l'élevage larvaire *in vitro* et ses applications en toxicologie (chapitre 7). Les approches comportementales de nature à rendre les études toxicologiques sur les insecticides plus pertinentes seront ensuite explicitées (quantification des capacités locomotrices, succès de vol de retour à la ruche, conditionnement de l'extension du proboscis, etc.). De telles approches pourraient servir de base de réflexion aux instances nationales et internationales pour la mise en place de nouvelles méthodes réglementaires (chapitre 8 et chapitre 9). Enfin, il sera fait état des modes d'action des classes d'insecticides neurotoxiques les plus utilisées (chapitre 10). L'exploration *in vitro* de ces mécanismes d'action est désormais un élément incontournable dans la prédiction fine des symptômes d'intoxication et des altérations comportementales chez les abeilles. Les avancées récentes dans ce domaine, rendues possibles par la publication du génome de l'abeille seront détaillées plus avant dans la deuxième partie de l'ouvrage.

Le séquençage du génome de l'abeille en 2006 a ouvert de nouveaux champs d'étude pour l'analyse de l'effet des pesticides. Parmi ceux-ci on peut citer l'évaluation de leurs effets sur l'activité génique, c'est-à-dire sur la surexpression ou la répression de certains gènes grâce à des approches d'analyse de puces à ADN ou de séquençage d'ARN messager -RNA-Seq. Le séquençage a aussi permis d'identifier et de cloner les cibles moléculaires de ces pesticides, ouvrant ainsi la voie à une analyse *in vitro*, par expression hétérologue, des modifications qu'ils produisent sur le fonctionnement de leurs cibles.

Les insecticides neurotoxiques touchent principalement les canaux ioniques exprimés au niveau synaptique et axonal. Une centaine de gènes a été identifiée chez l'abeille domestique *Apis mellifera* comme codant pour des canaux ioniques ou leurs sous-unités régulatrices. Ces 100 gènes se répartissent en deux grands groupes : les canaux activés par le potentiel (VGIC ou Voltage-Gated Ion Channels), et les canaux activés par un ligand (LGIC

INTRODUCTION

ou Ligand-Gated Ion Channels). Chacun de ces groupes comprend plusieurs types de canaux codés par un ou plusieurs gènes. On peut noter par exemple les canaux sodiques ou calciques, cibles des pyréthrinoides, pour les VGIC ou les récepteurs nicotiniques ou les récepteurs GABA, cibles respectives des néonicotinoides et des phénylpyrazoles, pour les LGIC (Figure 2).

Apis VGIC

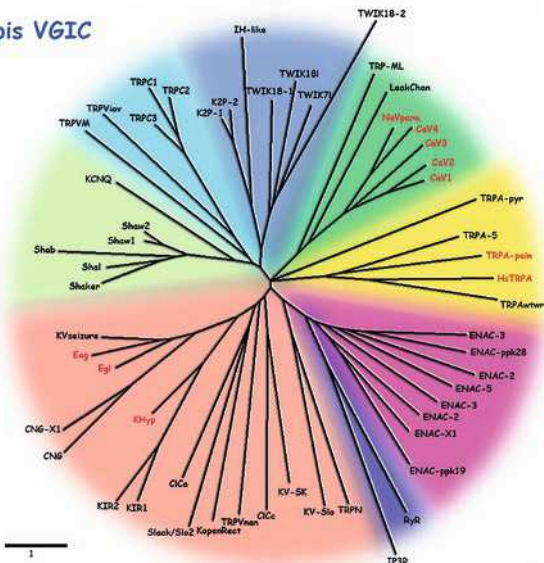
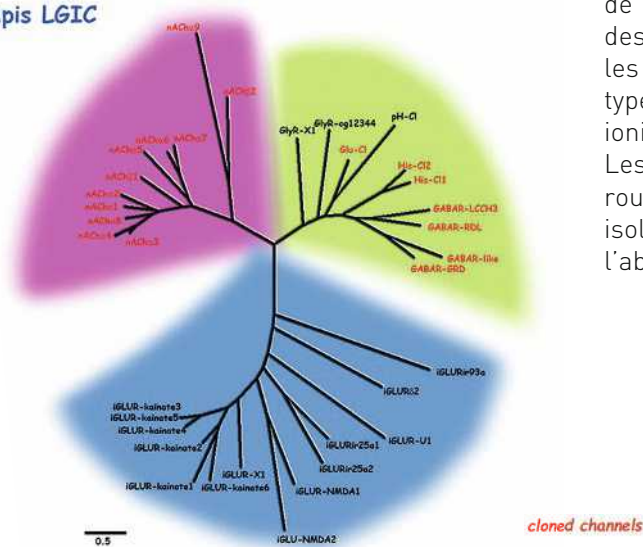


Figure 2
- Dendrogramme montrant l'homologie des gènes entre les différents types de canaux ioniques. Les gènes en rouge ont été isolés chez l'abeille.

Apis LGIC



Les chapitres suivants rassemblent un ensemble de données permettant de faire le point sur les connaissances actuelles sur les effets des insecticides sur la régulation de l'activité génique (chapitre 11) et sur les gènes codant pour les principales cibles des insecticides : les canaux dépendant du voltage, que ce soient les canaux potassiques (chapitre 12), sodiques (chapitre 13) ou calciques (chapitre 14), et les récepteurs activés par un ligand : récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (chapitre 15) ou récepteurs GABAergiques (chapitre 16). Les récepteurs RYR, qui sont des canaux calciques intracellulaires cibles d'une nouvelle classe d'insecticides les diamides, sont aussi détaillés (chapitre 17). Cette partie ne prétend bien évidemment pas proposer une étude exhaustive de l'ensemble des canaux présents chez l'abeille, tous les gènes n'ayant pas encore été isolés et caractérisés, mais elle propose une revue des données actuellement disponibles sur les gènes des cibles identifiées des insecticides neurotoxiques les plus utilisés. Deux annexes, (annexe 1 et annexe 2) en fin d'ouvrage présentent rapidement aux lecteurs désireux d'approfondir leurs connaissances sur les méthodologies utilisées pour ces travaux les techniques de biologie moléculaire et d'électrophysiologie, techniques à l'origine des nombreuses avancées décrites dans cet ouvrage.

TABLE DES MATIÈRES

Analyses des séquences protéiques.....	309
Modifications post-transcriptionnelles.....	314
16.6 Expression hétérologue	
des récepteurs GABA _A d'abeille.....	315
16.7 Conclusions.....	318
Chapitre 17. Canaux calciques intracellulaires (RyR).....	321
17.1 Introduction – Homéostasie	
calcique intracellulaire	321
17.2 Structure protéique des RyR d' <i>Apis mellifera</i>	324
17.3 Homologie du RyR d'abeille domestique	
avec d'autres espèces.....	326
17.4 Patron d'expression du RyR chez l'abeille.....	329
17.5 Propriétés biophysiques	
et régulation physiologique des RyR.....	329
17.6 Mesure de l'activité des RyR d'abeille <i>in situ</i>	333
17.7 Alcaloïdes et glycosides végétaux affectant	
l'activité du RyR (caféine/ryanodine/digoxine).....	335
17.8 Les diamides anthraniliques et phthaliques :	
des insecticides synthétiques qui affectent	
le fonctionnement des RyRs.....	337
17.9 Autres insecticides synthétiques ciblant les RyR....	339
17.10 Toxines ciblant les RyR.....	339
17.11 L'expression hétérologue et le criblage	
pour identifier de nouveaux insecticides	340
17.12 Mutations du RyR associées	
à une résistance aux diamides.....	342
17.13 Pathologies musculaires d'origine génétique...	
quels équivalents chez les abeilles ?	343
17.14 Conclusion	344
Conclusion. Les enjeux sont sur la table.....	347

Annexes

Les techniques de biologie moléculaire	353
A1.1 Introduction.....	353
A1.2 De l'ADN à la protéine.....	353

A1.3 Les enzymes du génie génétique.....	357
Les polymérases	357
La transcriptase inverse	357
Les endonucléases de restriction.....	357
Les phosphatases	359
Les kinases.	359
Les ligases	360
A1.4 La PCR.....	360
A1.5 Les vecteurs de clonage.....	363
A1.6 Le séquençage.....	364
A1.7 Les étapes du clonage d'un ADN d'intérêt.....	365
Isolation et purification des ARN.....	366
Synthèse d'un brin d'ADNc.....	366
Amplification par PCR de l'ADNc d'intérêt.....	367
Clonage des ADNc amplifiés dans un plasmide.....	367
Sélection du clone.....	368
Production du vecteur recombinant d'intérêt	369
Les techniques d'électrophysiologie.....	371
A2.1 Quelques notions de bases en électrophysiologie cellulaire	371
A2.2 Des éléments techniques sur les enregistrements électrophysiologiques	377
A2.3 Enregistrement du potentiel de membrane	379
A2.4 Voltage imposé ou <i>voltage-clamp</i>	381
A2.5 Conclusion	384
Bibliographie.....	385
Auteurs.....	441