

**COMPARAISON DE LA TOXICITÉ DIRECTE ET DES EFFETS SUBLÉTAUX DE QUATRE PESTICIDES À L'ÉGARD DE DIFFÉRENTS STADES DE DÉVELOPPEMENT D'*ADALIA BIPUNCTATA* (L.) (COLEOPTERA, COCCINELLIDAE).**

**T. Mahaut<sup>\*</sup>, R. Deleu<sup>\*\*</sup>, B. Rasquin<sup>\*\*</sup> & B. Schiffers<sup>\*\*</sup>**

<sup>\*</sup> Centre de Recherches agronomiques du Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, Département de Lutte biologique et Ressources phytogénétiques (Directeur : Latteur G.), Chemin de Liroux, 2 - B-5030 Gembloux, (Belgique)  
Tél. : +32 (0)81 62 56 80 Fax. : +32 (0)81 65 56 89 E-mail : mahaut@cragx.fgov.be

<sup>\*\*</sup> Faculté universitaire des Sciences agronomiques, Unité de Chimie analytique et Phytopharmacie (Professeur Copin A.), Passage des Déportés 2 - B-5030 Gembloux, (Belgique)  
Tél. : +32 (0)81 62 22 21 Fax. : +32 (0)81 62 22 16 E-mail : deleu.r@fsagx.ac.be

### Résumé

La toxicité directe et les effets sur la reproduction de trois insecticides, la deltaméthrine, le pirimicarbe, la phosalone, et d'un fongicide, le fenpropimorphe, ont été étudiés sur différents stades de développement de la coccinelle à deux points, *Adalia bipunctata* (L.), en conditions de laboratoire.

Chaque pesticide a été testé à la dose maximale recommandée en grandes cultures ainsi qu' à 5% de celle-ci.

Les œufs et les pupes de la coccinelle ont été soumis à des pulvérisations directes. Les larves âgées de 4 et 14 jours ont été exposées durant 24 heures sur des plaques de verre traitées. La détermination des dépôts appliqués a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse capillaire (CPG) ou par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

La deltaméthrine s'est avérée très toxique envers tous les stades de développement aux deux concentrations testées. La phosalone, toxique à la dose recommandée, a eu un impact variable selon le stade étudié, à la dose réduite. Le pirimicarbe appliqué à la dose la plus élevée a quelque peu affecté le pourcentage d'éclosion des œufs pulvérisés mais a présenté une toxicité élevée à l'égard des plus jeunes larves de coccinelles. Le fenpropimorphe pulvérisé à la plus forte dose s'est aussi montré toxique envers les larves âgées de quatre jours.

**Mots clés:** *Adalia bipunctata*, Coccinellidae, insectes utiles, toxicité directe, effets sublétaux, pesticides, deltaméthrine, fenpropimorphe, pirimicarbe, phosalone.

### Introduction

Depuis quelques années, et particulièrement depuis l'entrée en vigueur de la directive 91/414/CEE qui régleme la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques dans

L'Union européenne, les recherches en écotoxicologie bénéficient d'un intérêt croissant, de la part de la communauté scientifique, des autorités publiques et de l'industrie agrochimique.

Parmi les nombreux thèmes de recherches que recouvre l'écotoxicologie, l'évaluation des effets des pesticides sur les arthropodes utiles acquiert toute son importance dans la perspective du développement de stratégies de lutte intégrée en horticulture, mais aussi en grandes cultures où le respect des populations d'auxiliaires naturellement présents permet souvent de limiter le recours aux insecticides.

En matière d'évaluation des effets des pesticides sur les insectes utiles, des recommandations générales sont formulées par BARRETT & al. (1994), tant pour les essais menés en conditions de laboratoire que pour les tests conduits en conditions semi-naturelles ou de plein champ. Sous l'égide de l'Organisation Internationale de Lutte Biologique, des protocoles d'essais ont été développés pour un grand nombre d'arthropodes utiles (IOBC/WPRS, 1988, 1992).

La plupart de ces protocoles n'envisagent cependant qu'un stade déterminé de l'organisme à tester. De plus, les essais sont effectués le plus souvent avec une dose d'application unique correspondant à une exposition maximale. En pratique, les arthropodes utiles peuvent néanmoins être confrontés à de faibles résidus de pesticides, à divers stades de leur développement. C'est par exemple le cas d'insectes contaminés par les effets de dérive ou recolonisant une culture déjà traitée. C'est aussi vrai pour des auxiliaires présents dans des portions du couvert végétal pauvres en résidus (DELEU & MAHAUT, 1999). Sans nécessairement être directement affectés par la toxicité des résidus, ces insectes pourraient souffrir d'éventuels effets sublétaux réduisant par exemple leur capacité de reproduction.

Dans ce cadre, nous avons voulu comparer, en conditions de laboratoire, la toxicité directe et les effets sur la reproduction de trois insecticides et un fongicide appliqués sur la coccinelle *Adalia bipunctata* (L.) à quatre stades différents de son développement. Ces produits ont été testés à leur dose maximale recommandée en grandes cultures, ainsi qu'à une dose vingt fois moindre.

## Matériels et méthodes

Trois insecticides, la deltaméthrine, le pirimicarbe et la phosalone, ainsi qu'un fongicide le fenpropimorphe, ont été retenus. Les premiers sont représentatifs des trois grandes familles d'insecticides couramment employés en grandes cultures, le dernier est un fongicide connu pour être toxique à l'égard de plusieurs arthropodes utiles (HASSAN & al., 1988) et notamment *A. bipunctata* (MAHAUT & DELEU, 1997). Les formulations commerciales utilisées sont :

- PIRIMOR WG® (granulés dispersibles contenant 50% de pirimicarbe)
- CORBEL BASF® (concentré émulsionnable contenant 750 g/l de fenpropimorphe)
- DECIS EC 2,5® (concentré émulsionnable contenant 25 g/l de deltaméthrine)
- ZOLONE FLO® (suspension concentrée contenant 500 g/l de phosalone).

Le tableau 1 reprend, pour chacune des substances actives étudiées, les doses d'application choisies pour les essais, à savoir, la dose agréée en céréales, 5% de celle-ci et un témoin constitué d'eau de distribution.

**Tableau 1:** doses d'application retenues pour les quatre substances actives testées.

Substances actives	Dose 100% (g de s.a./ha)	Dose 5% (g de s.a./ha)	Témoin 0% (g de s.a./ha)
Pirimicarbe	125	6,25	0
Phosalone	750	37,5	0
Deltaméthrine	5	0,25	0
Fenpropimorphe	750	37,5	0

Quatre stades de développement de la coccinelle *Adalia bipunctata* ont été exposés à ces quatre pesticides :

- le stade œuf
- le stade L2 (larves âgées de 4 jours)
- le stade L4 (larves âgées de 14 jours)
- le stade pupes.

Les œufs et les pupes de coccinelle ont été soumis directement à une pulvérisation. Les deux stades larvaires ont été exposés aux résidus de pesticides durant 24 heures sur des plaques de verre traitées au préalable.

### Modalités d'élevage

L'élevage des coccinelles est effectué en chambre conditionnée à 20°C. Les adultes placés dans des cages de ponte sont nourris de pollen et de pucerons du pois (*Acyrtosiphon pisum*) produits sur fèves. Un tampon d'ouate humidifiée placée dans les cages assure l'alimentation en eau. Des boules de papier absorbant sont disposées dans les cages et servent de support pour les pontes. Tous les deux jours la nourriture est renouvelée et les œufs pondus sont récoltés et placés en boîtes de Pétri. Les œufs éclosent dans les 72 heures et les jeunes larves sont alors placées dans de nouvelles boîtes et nourries de pucerons du pois jusqu'à la pupaison. Celle-ci se produit aux environs du vingtième jour et l'émergence des imago environ une semaine plus tard. Ce processus de production permet de disposer à tout moment d'insectes d'âge et de stade de développement bien connus.

### Pulvérisation

Les bouillies de pesticides sont appliquées sur les substrats dans une cabine de pulvérisation permettant d'imposer une durée et une pression de pulvérisation constantes. Dans nos conditions expérimentales, avec une pression de 0,5 kg/cm<sup>2</sup>, la quantité de bouillie appliquée correspond à un dépôt de 200 l/ha.

Dans le cas des essais menés sur le stade œuf, les bouillies de pulvérisation sont appliquées chacune sur trois lots de 50 œufs âgés de maximum 72 h. Les disques de verre destinés aux essais avec les larves de coccinelles sont pulvérisés à raison de 5 lots de 5 disques par objet. Les pupes sont traitées pour leur part par groupe de cinq, à raison de 15 pupes par objet. Afin de déterminer avec précision la quantité de pesticide réellement appliquée, trois disques de verre supplémentaires sont ajoutés à chaque lot introduit dans la cabine de traitement. Le dépôt récupéré après extraction est alors analysé par chromatographie en phase gazeuse

capillaire (CPG) ou par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) selon le pesticide envisagé.

#### Éclosion des œufs

Après pulvérisation, les œufs sont conservés en boîtes de Pétri à 20°C, jusqu'à leur éclosion. Les jeunes larves sont récoltées au fur et à mesure de leur apparition et sont placées individuellement dans des boîtes de Pétri de 3,5 cm de diamètre. Le pourcentage d'œufs éclos est noté tous les jours en tenant compte du nombre d'œufs éventuellement détruits par cannibalisme. Les œufs non éclos après une semaine sont éliminés et considérés comme morts. Les larves issues des pontes sont nourries de pucerons et observées quotidiennement jusqu'au stade adulte.

#### Mortalités larvaires

Afin d'évaluer la toxicité des résidus de pesticides à l'égard des larves de coccinelle, des cellules de test sont assemblées avec les disques de verre de 5 cm de diamètre, deux heures après leur pulvérisation. Chaque cellule est constituée d'une plaque de support de 54 cm<sup>2</sup> (9x6 cm) sur laquelle est déposé un disque, la face traitée orientée vers le haut. Ce disque est surmonté d'un anneau en plastique de même diamètre dont la face intérieure est recouverte d'un film anti-adhérent à base de Fluon®. Deux larves de coccinelle âgées de 4 ou 14 jours sont déposées dans chaque cellule avec quelques pucerons en guise de nourriture. Pour chaque objet étudié, 25 cellules de test sont ainsi préparées. La durée d'exposition des larves est limitée à 24 heures. Passé ce délai, les cellules sont démontées et la mortalité larvaire est déterminée. Les larves encore vivantes sont placées en boîte de Pétri comme décrit plus haut. Elles sont nourries de pucerons tous les jours jusqu'au terme de leur développement. Une observation quotidienne est effectuée et les mortalités larvaires éventuelles sont enregistrées ainsi que le nombre de pupes et d'adultes obtenus.

#### Émergence des imagos

Pour évaluer l'impact des pulvérisations sur les pupes, celles-ci sont placées en boîte de Pétri après traitement. Le nombre d'adultes émergés est enregistré après 7 jours, ainsi que les mortalités éventuelles. Des pucerons sont ajoutés quotidiennement dans les boîtes en guise de nourriture dès l'apparition des premiers adultes.

#### Fécondité des adultes

Chaque fois qu'à l'issue d'un essai sur œufs, sur larves ou sur pupes, au moins trois couples d'adultes sont obtenus, ceux-ci sont placés en cage de ponte afin de dénombrer le nombre moyen d'œufs pondus par femelle durant une période de deux semaines. Pour ce faire, le papier servant de support de ponte dans les cages est changé tous les deux jours et le nombre d'œufs pondus est déterminé avec précision.

## Résultats et discussion

#### Traitement des œufs

Le tableau 2 ci-dessous reprend de manière synthétique l'ensemble des résultats des analyses chimiques et des observations biologiques effectués suite à la pulvérisation d'œufs d'*A.*

*bipunctata* avec les différentes bouillies de pesticides. Les valeurs moyennes reprises dans le tableau sont accompagnées à chaque fois de l'écart type correspondant.

**Tableau 2:** Pourcentages moyens d'éclosion, de mortalité larvaire observée après 24 h, de pupes formées et d'adultes obtenus, pour chaque dose de matière active appliquée sur les œufs d'*A. bipunctata*.

Substances actives	Dépôt appliqué (µg s.a./cm <sup>2</sup> )	Éclosion (%)	Mortalité larvaire après 24 h (%)	Pupes (en % du nbre œufs éclos)	Adultes (en % du nbre œufs éclos)
Témoins (dose 0%)	0 ± 0	86 ± 8	16 ± 5	63 ± 8	55 ± 8
Pirimicarbe (dose 100%)	1,057 ± 0,031	58 ± 4	15 ± 5	78 ± 8	64 ± 15
Pirimicarbe (dose 5%)	0,051 ± 0,002	74 ± 15	17 ± 3	63 ± 10	58 ± 14
Phosalone (dose 100%)	5,572 ± 0,416	38 ± 21	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Phosalone (dose 5%)	0,219 ± 0,031	85 ± 10	81 ± 10	13 ± 2	12 ± 1
Deltaméthrine (dose 100%)	0,044 ± 0,007	1 ± 2	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Deltaméthrine (dose 5%)	0,003 ± 0,001	33 ± 12	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Fenpropimorphe (dose 100%)	7,325 ± 0,505	76 ± 11	28 ± 9	56 ± 16	51 ± 15
Fenpropimorphe (dose 5%)	0,316 ± 0,012	84 ± 10	21 ± 2	61 ± 4	50 ± 0

Il ressort de ce tableau que la deltaméthrine aux deux doses appliquées et la phosalone à la dose la plus élevée ont fortement affecté le pourcentage d'éclosion des œufs traités. Par ailleurs, aucune des larves émergées n'a survécu plus de 24 heures. A la dose réduite de phosalone, bien que le pourcentage d'éclosion ne soit pas différent de celui obtenu dans les témoins, une mortalité larvaire de plus de 80% a été enregistrée hypothéquant ainsi fortement le développement de la coccinelle. Ces mortalités élevées sont probablement imputables au fait que les jeunes larves sont intoxiquées au contact ou par ingestion des reliquats d'œufs traités.

Le pirimicarbe appliqué à la dose agréée en céréales a quelque peu réduit le pourcentage d'éclosion mais n'a nullement affecté les autres étapes du développement et notamment la mortalité larvaire dans les 24 heures suivant l'éclosion. La très faible rémanence de cette substance active (DELEU & MAHAUT, 1998) pourrait expliquer cette différence.

Le fenpropimorphe pulvérisé aux deux doses testées n'a, pour sa part, pas eu d'impact significatif sur l'éclosion et le développement larvaire.

#### Traitement des larves

De manière similaire, le tableau 3 présente les résultats relatifs aux essais de pulvérisation de larves d'*A. bipunctata* âgées de 4 et 14 jours (stades L2 et L4).

La forte toxicité de la deltaméthrine et de la phosalone est confirmée ici puisqu' aucune pupa et a fortiori aucun adulte n'a pu être obtenu au départ des larves L2 ou L4 pulvérisées à la dose pleine comme à la dose réduite.

Le pirimicarbe est apparu très toxique à la dose maximale sur les larves âgées de 4 jours (stade L2) entraînant 100% de mortalité après 48 h. Il semble par contre pratiquement inoffensif sur les larves du quatrième stade et sur les deux types de larves à la dose réduite.

Enfin, le fenpropimorphe qui n'a pas entraîné d'effets sur l'éclosion des œufs aux deux doses testées (voir tableau 2), est apparu nettement toxique à l'égard des jeunes larves de coccinelle à la dose pleine. Il a cependant peu affecté les larves âgées et s'est montré totalement sans effet à 5% de la dose maximale agréée.

**Tableau 3:** Pourcentages moyens de mortalité larvaire observée après 24, 48 et 72 h, de pupes formées et d'adultes obtenus, pour chaque dose de matière active appliquée sur des larves d'*A. bipunctata* des stades L2 et L4.

Substances actives	Dose	Stade larvaire	Dépôt moyen (µg s.a./cm <sup>2</sup> )	Mortalité larvaire (en %), après :			Pupes (en % du nbre de larves au départ)	Adultes (en % du nbre de larves au départ)
				24 h	48 h	72 h		
Témoins	0 %	L2	0 ± 0	8 ± 9	9 ± 7	11 ± 9	75 ± 5	69 ± 6
		L4	0 ± 0	6 ± 8	6 ± 8	9 ± 8	90 ± 8	82 ± 10
Pirimicarbe	100 %	L2	0,634 ± 0,072	94 ± 8	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		L4	0,525 ± 0,112	2 ± 4	8 ± 8	16 ± 5	82 ± 8	46 ± 17
	5 %	L2	0,007 ± 0,001	8 ± 8	10 ± 7	10 ± 7	70 ± 7	62 ± 8
		L4	0,008 ± 0,004	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	98 ± 4	84 ± 8
Phosalone	100 %	L2	5,114 ± 1,118	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		L4	7,390 ± 0,800	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	5 %	L2	0,204 ± 0,014	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		L4	0,327 ± 0,016	44 ± 17	76 ± 15	92 ± 4	0 ± 0	0 ± 0
Deltaméthrine	100 %	L2	0,048 ± 0,003	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		L4	0,057 ± 0,001	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	5 %	L2	0,003 ± 0,001	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		L4	0,003 ± 0,000	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Fenpropimorphe	100 %	L2	4,706 ± 0,503	78 ± 10	88 ± 8	90 ± 6	4 ± 5	4 ± 5
		L4	5,844 ± 0,652	10 ± 9	16 ± 10	20 ± 6	78 ± 8	26 ± 8
	5 %	L2	0,098 ± 0,011	4 ± 5	4 ± 5	8 ± 8	74 ± 5	62 ± 8
		L4	0,155 ± 0,024	6 ± 8	8 ± 8	12 ± 8	82 ± 8	70 ± 10

#### Traitement des pupes

Le tableau 4 regroupe les résultats relatifs aux essais menés sur les pupes d'*A. bipunctata* pulvérisées avec les quatre matières actives étudiées.

**Tableau 4:** Pourcentages moyens d'émergence et de mortalité d'adultes 7 jours après le traitement de pupes d'*A. bipunctata* à deux doses de pirimicarbe, de phosalone de deltaméthrine et de fenpropimorphe.

Substances actives	Dépôt appliqué (µg s.a./cm <sup>2</sup> )	% Adultes émergés (après 7 j.)	% Adultes vivants (après 7 j.)
Témoins (dose 0%)	0 ± 0	93 ± 13	93 ± 13
Pirimicarbe (dose 100%)	1,2 ± 0,05	93 ± 12	93 ± 12
	0,058	93 ± 13	80 ± 20
Phosalone (dose 100%)	5,7 ± 0,57	13 ± 12	0 ± 0
	0,16	53 ± 12	53 ± 12
Deltaméthrine (dose 100%)	0,047 ± 0,004	0 ± 0	0 ± 0
	0,003	0 ± 0	0 ± 0
Fenpropimorphe (dose 100%)	10,0 ± 1,27	80 ± 20	80 ± 20
	0,367	80 ± 20	80 ± 20

Il apparaît à la lecture du tableau que la pulvérisation de pirimicarbe et de fenpropimorphe sur les pupes de coccinelle n'a pas affecté significativement l'émergence des adultes et leur

vitalité. Par contre, la deltaméthrine appliquée aux deux doses testées a détruit la totalité des pupes confirmant ainsi sa grande toxicité à l'égard d'*A. bipunctata*. La phosalone a présenté également une toxicité élevée à la dose habituelle et a entraîné la perte de près de la moitié des pupes pulvérisées à une dose vingt fois moindre.

#### Tests de fécondité

Vu la toxicité élevée de la deltaméthrine et de la phosalone, aucun test de fécondité n'a pu être entrepris pour ces deux matières actives.

La grande variabilité obtenue dans les tests menés sur adultes provenant d'œufs, de larves ou de pupes exposés au pirimicarbe ou au fenpropimorphe ne nous a pas permis de mettre en évidence un éventuel effet de ces deux composés sur la fécondité des femelles d'*A. bipunctata*.

#### Conclusions

Il ressort des résultats qui précèdent que la coccinelle *Adalia bipunctata* présente une sensibilité variable aux pesticides étudiés selon le stade de développement et le niveau d'exposition envisagés.

La deltaméthrine est apparue extrêmement toxique à l'égard de cet insecte à tous les stades de son développement et quelle que soit la dose appliquée. Ainsi, une dose d'application correspondant au vingtième de la dose normalement agréée en céréales détruit encore la totalité des individus exposés.

La phosalone a montré un comportement pratiquement similaire avec néanmoins un effet parfois atténué à la dose la plus faible, en particulier vis-à-vis des œufs et des pupes.

Le pirimicarbe caractérisé par sa grande volatilité est apparu sélectif à l'égard des pupes et des larves âgées de 14 jours aux deux doses testées. Il reste néanmoins toxique envers les jeunes larves et dans une moindre mesure envers les œufs d'*A. bipunctata* à la dose recommandée.

Il se confirme aussi que, dans nos conditions d'essai, le fenpropimorphe, mieux connu pour ses propriétés fongicides, est aussi toxique à l'égard des jeunes larves de la coccinelle en question, à la dose d'utilisation en champ.

Enfin, aucun effet des deux dernières substances actives sur la fécondité des femelles d'*Adalia bipunctata* n'a pu être mis en évidence.

#### Remerciements

Ces recherches ont été financées par l' "Administration Recherche et Développement (DG6)" du Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, (Bruxelles, Belgique).

#### Références

Barrett K.L., Grandy N., Harrison E.G., Hassan S.A. & Oomen P., (1994). Guidance document on regulatory testing procedures for pesticide with non-target arthropods. *Workshop European Standard Characteristics of beneficials Regulatory Testing*

- (ESCORT) held at IAC Wageningen, The Netherlands, 28-30 March 1994, Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) - Europe, ISBN 0 9522535 2 6.
- Deleu R. & Mahaut T., (1999). Détermination en conditions semi-naturelles de la toxicité de pesticides à l'égard d'arthropodes utiles. *XXIX<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français des Pesticides – "Aspect multiple des produits phytosanitaires"*, 157-164.
- Deleu R. & Mahaut T., (1998). Predictive models of pirimicarb toxicity on three beneficial arthropods. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 63/2b:593-596.
- 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., Samsøe-Petersen L., Stäubli A., Sterk G., Tavares K., Tuset J.J., Viggiani G. & Vivas G., (1988). Results of the fourth joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *J. Appl. Ent.* 105: 321-329.
- IOBC/WPRS Bulletin 1988/XI/4. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials : Short description of test methods.* 143 pp.
- IOBC/WPRS Bulletin 1992/XV/3. Working Group "Pesticides and Beneficial Organisms". *Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms : Description of tests methods.* 186 pp.
- Mahaut T. & Deleu R., (1997). Relation entre le comportement chimique et la toxicité de pesticides à l'égard d'*Aphidius rhopalosiphii* De Stefani-Perez, *Adalia bipunctata* (L.) et *Episyrphus balteatus* (De Geer) : Premiers résultats. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, 62/2b: 573-580.