

ACTES DES COLLOQUES INSECTES SOCIAUX

Édités par l'Union Internationale pour l'Étude des Insectes Sociaux
Section française

VOL. 4 – COMPTE RENDU COLLOQUE ANNUEL,

PAIMPONT 17-19 Sept. 1987



Charles Fournet
1899

ETUDE DE LA DETOXICATION DU PLOMB PAR L'ABEILLE

(APIS MELLIFERA L.)

par

H. RAES⁽¹⁾, W. BOHYN⁽²⁾ & F. JACOBS⁽¹⁾

(1) *Laboratorium voor Zoöfysiologie, R. U. GENT K. L.
Ledeganckstraat 35, B-9000 GENT*

(2) *Laboratorium voor Electronenmikroskopie, R. U. GENT
St. - Pietersnieuwstraat 41, B-9000 GENT*

Résumé: L'effet de l'administration par voie orale de différentes concentrations du chlorure de plomb,

sur la longévité d'abeilles adultes, ainsi que sur la composition relative de leurs granules minéralisés, a été étudié. A l'aide de la spectrométrie aux rayons X à dispersion d'énergie, on a pu démontrer que le plomb est accumulé dans les granules de l'intestin moyen, du corps gras et des tubes de Malpighi. Dans l'intestin moyen, la concentration relative du plomb augmente avec la concentration donnée, dans certaines limites.

La survie des abeilles qui ont reçu 1 et 100 ppm de chlorure de plomb n'en est pas significativement influencée; par contre, les courbes de survie des abeilles ayant reçu 10 et 50 ppm sont significativement plus basses que celle des contrôles.

Mots-clés: granules minéralisés, métaux lourds, *Apis mellifera*, intestin moyen, corps gras, tubes de Malpighi, spectrométrie aux rayons X à dispersion d'énergie

Summary: Study on the detoxification of lead by the honey bee (*Apis mellifera* L.).

Perorally administered lead chloride is detoxified very effectively by the adult honey bee. Concentrations of 1 and 100 ppm of the salt are tolerated without significant effect on their survival; however, their mortality rate is significantly increased by 10 and 50 ppm. The toxic metal is accumulated within mineralised granules of the midgut, the fatbody and the Malpighian tubes. By means of energy dispersive X-ray analysis, we found that the relative concentration of lead within the granules of the midgut increases, within

limits, with the administered dose.

Key-words: mineralised granules, heavy metals, *Apis mellifera*, midgut, fat body, Malpighian tubules, energy dispersive X-ray analysis.

INTRODUCTION

Les métaux font partie intégrante de l'environnement ainsi que de la matière vivante. Ces éléments -tant essentiels que non-essentiels- sont cependant nocifs, et même extrêmement toxiques lorsque leur concentration dépasse un seuil critique. Les êtres vivants ont développé divers mécanismes puissants de protection intracellulaire.

Un des mécanismes dont les invertébrés disposent consiste en la précipitation des ions de métaux, soit dans les citernes ergastoplasmiques, soit dans des vésicules des dictyosomes de certaines cellules (Simkiss, 1979). Cette précipitation engendre la formation de concrétions amorphes et peu solubles, connues également sous le nom de sphérules, ou sphérocristaux (Jeantet et al., 1977). Sohal et al. (1977) ont suggéré l'emploi du terme "concrétion" pour toute forme de granule minéralisé.

Les métaux lourds peuvent également être accumulés dans de telles granules pour y être neutralisés (Jeantet et al., 1977). Ceci peut entraîner de fortes concentrations de certains polluants dans l'organisme (Bouquegneau et al., 1984).

La possibilité d'utiliser certains invertébrés accumulateurs de métaux lourds comme indicateur biologique de la pollution de l'environnement a été proposée par certains auteurs (Icely et Nott, 1980; Goldberg, 1984). L'abeille est un insecte qui a été cité dans ce contexte (Bromenshenk et al., 1985).

Lors de recherches sur l'ultrastructure de différents tissus de cet insecte, nous avons trouvé des granules minéralisés appartenant à deux types distincts, et de composition différente (Bohyn et al., 1986). Premièrement, des granules à couches concentriques sont formés dans les vésicules des dictyosomes des cellules épithéliales de l'intestin moyen et des tubes de Malpighi. Deuxièmement, des granules denses aux électrons, spécialement riches en fer, se trouvent dans les citernes ergastoplasmiques des cellules épithéliales de l'intestin moyen et des trophocytes du corps gras. Ces derniers apparaissent uniquement dans l'intestin moyen au cours de la période pendant laquelle les abeilles se nourrissent de pollen (Raes et al., sous presse).

Des analyses, à l'aide de la spectrométrie aux rayons X à dispersion d'énergie, des granules minéralisés provenant d'abeilles élevées librement en milieu urbain, y ont démontré occasionnellement la présence du plomb.

Ceci nous a incité à faire des expériences sur l'effet de l'administration par voie orale du chlorure de plomb sur la longévité des abeilles, ainsi que sur la concentration relative de leurs granules minéralisés. Dans cette note, nous voulons décrire les résultats de ces expériences.

MATERIEL ET METHODES

Les abeilles sont élevées dans les conditions normalisées suivantes: dans les 24 heures qui suivent l'éclosion, les jeunes abeilles sont transférées par groupes de 50 dans des cages expérimentales. Elles sont pourvues de pâte de pollen, d'eau, de sirop de sucre, ainsi que d'un morceau de cire gaufrée, et placées en chambre chaude à 35°. Le sirop de sucre contenait respectivement 0, 1, 10, 50 et 100 ppm de chlorure de plomb. Les essais comprenaient 5 cages par concentration. Lors de contrôles journaliers, les abeilles décédées étaient comptées afin d'établir les courbes de survie, puis éloignées.

L'analyse statistique des courbes de survie a été effectuée suivant la méthode de Nie et Hull (1981), à l'aide du paquet d'analyse statistique SPSS des mêmes auteurs.

Au 18ème jour, des abeilles sont prélevées en vue de dissection. Les microanalyses X de granules individuels sont effectuées sur 5 granules par abeille et chaque fois 5 abeilles par concentration de plomb. Ceci a été fait pour les sphérocristaux de l'intestin moyen et des tubes de Malpighi, ainsi que pour les granules minéralisés du corps gras. A cet effet le tissu de chaque abeille est homogénéisé individuellement dans 200µl d'eau désionisée; ensuite une goutte de l'homogénat est placée sur une grille et, après séchage à l'air, la préparation peut être étudiée au microscope. De par leur densité aux électrons, les granules sont facilement identifiables dans de telles préparations. D'après Morgan (1984), cette méthode est valable pour les granules pratiquement insolubles que sont les sphérocristaux.

Les spectres ont été obtenus avec le système EDAX-9100, sur un microscope analytique à transmission, Philips E.M.420. Ils ont été accumulés pendant 60 "live seconds" afin d'avoir une bonne résolution pour les pics mineurs. Toutes les corrections et les calculs ont été effectués avec le "software" EDAX-9100. Les compositions relatives obtenues de cette façon sont surtout utilisables pour la comparaison d'échantillons similaires.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats et la statistique concernant l'influence des différentes concentrations de chlorure de plomb sur la mortalité des abeilles dans des cages

expérimentales sont représentés par des courbes de survie dans la figure 1. Des comparaisons par paires, il apparaît qu'il n'y a pas de différence entre les mortalités du groupe de contrôle et de celui ayant reçu 1 ppm et 100 ppm de chlorure de plomb. Les courbes des groupes de 10 et de 50 ppm sont par contre significativement plus basses. Pour le moment, nous ne disposons pas d'une explication définitive de ce résultat. Des essais en cours laissent néanmoins soupçonner deux causes probables. D'une part, en ce qui concerne la concentration supérieure, l'ingurgitation serait limitée par l'effet du goût du chlorure de plomb. D'autre part, il y aurait une concentration-seuil pour que le système de détoxification puisse fonctionner optimalement.

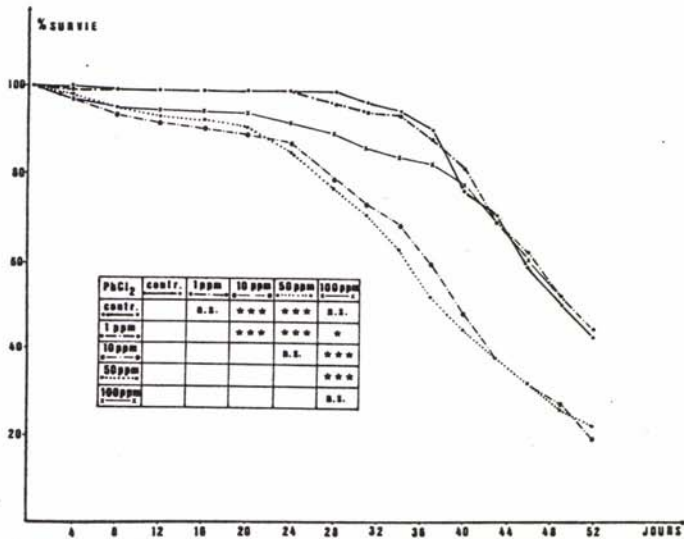


Figure 1: courbes de survie de abeilles pour les différentes concentrations de PbCl₂.

Les concentrations relatives des sphérocristaux de l'intestin moyen, ainsi que leur écart-type, sont présentées dans la figure 2, pour les différentes modalités de l'expérience. Ils font apparaître que le taux de plomb dans les sphérules augmente avec la concentration administrée, exception faite pour la concentration la plus élevée. Il apparaît, d'expériences faites dans d'autres conditions, que la concentration relative du plomb dans les sphérocristaux de l'intestin moyen ne dépasserait en moyenne pas 40 pour cent.

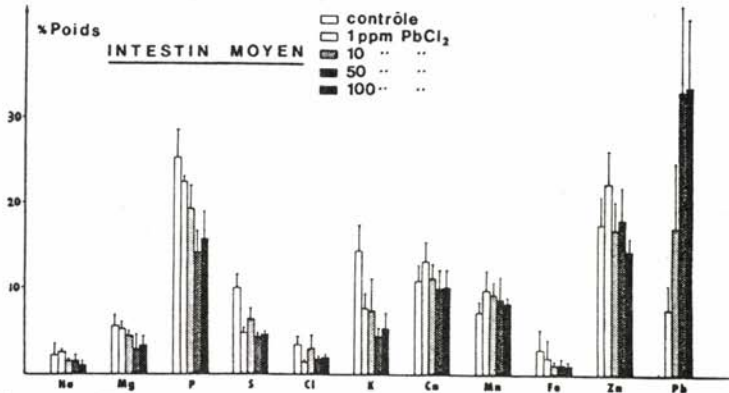


Figure 2: composition relative des sphérocristaux de l'intestin moyen pour les différentes concentrations de $PbCl_2$.

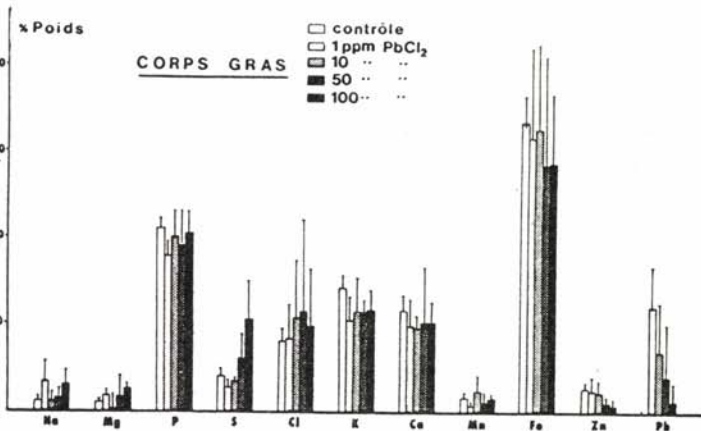


Figure 3: composition des granules riches en fer du corps gras pour les différentes concentrations de $PbCl_2$.

Dans le corps gras (figure 3), l'incorporation du plomb dans les granules riches en fer reste limitée. Elle est néanmoins la plus importante pour la concentration la plus faible du chlorure de plomb. De la figure 4 apparaît que, de même dans les tubes de Malpighi, la concentration relative du plomb dans les sphérocristaux diminue quand la concentration du plomb administré augmente. Nous supposons que les deux derniers organes récupèrent tout le plomb qui est libéré dans l'hémolymphe. Il se peut qu'avec la plus faible concentration de plomb le mécanisme de détoxication ne soit pas encore très efficace.

au niveau de l'intestin moyen. Ceci entraînerait des concentrations de plomb plus élevées dans le corps gras et dans les tubes de Malpighi. Lorsque, par contre, ce mécanisme fonctionne pleinement, le passage vers l'hémolymphe serait pratiquement inexistant, avec comme résultat qu'il n'y a presque plus de plomb dans les autres organes capables de l'accumuler.

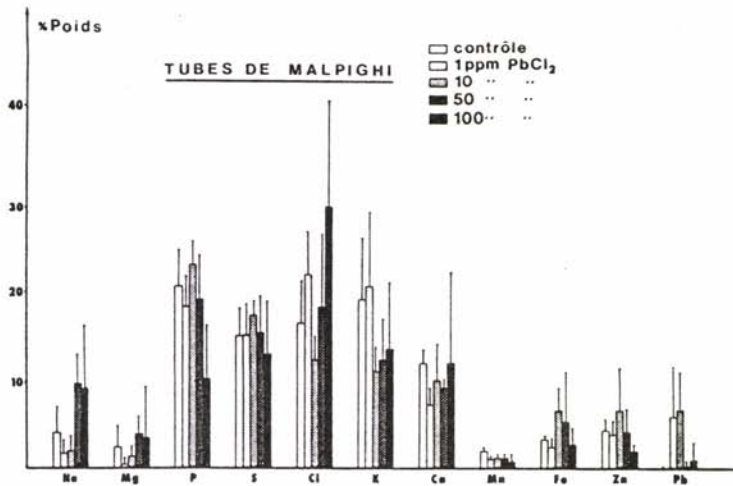


Figure 4: composition relative des sphérocristaux des tubes de Malpighi pour les différentes concentrations du PbCl₂.

En accord avec Jeantet, qui a étudié une espèce des genres *Formica* et *Blatella* (Jeantet et al., 1977), nous estimons que l'intestin moyen forme la barrière principale pour les métaux qui peuvent être accumulés dans des granules minéralisés.

Les résultats obtenus permettent aussi de conclure avec Brown (1983) que si l'on désire utiliser les granules minéralisés des invertébrés comme indicateur biologique de la pollution par les métaux lourds de l'environnement, il y a lieu d'effectuer des recherches préliminaires approfondies. Il sera nécessaire d'étudier le système de détoxication et sa cinétique dans diverses circonstances, et cela, fort probablement, pour chaque métal séparément.

Les résultats présentés ici, ainsi que ceux de l'examen histopathologique en cours, prouvent que l'abeille ouvrière adulte dispose d'un mécanisme de détoxication fort efficace pour le métal toxique qu'est le plomb.

REFERENCES

- BOHYN W., RAES H., VERBEKE M., DE RYCKE P.H., 1986.- Semi- quantitative microprobe analyses on native spherocrystals from different tissues of adult honeybees (Apis mellifera L.) Proc. XIth Int. Cong. on Electron Microscopy, Kyoto, 1986. 3343-3344.
- BOUQUEGNEAU J.M., MARTOJA M., TRUCHET M., 1984.- Heavy Metal Storage in Marine Animals under Various Environmental Conditions. in: Toxins, Drugs, and Pollutants in Marine Animals. Springer- Verlag, Berlin, Heidelberg, 147-160.
- BROMENSHENK J.J., CARLSON S.R., SIMPSON J.C., THOMAS J.M., 1985.- Pollution monitoring of Puget Sound with honey bees. Science, 227, 632-634.
- BROWN B.E., 1983.- Metal containing granules, potential biological indicators of pollution? Mar. Poll. Bull., 14(10), 369-372.
- GOLDBERG E.D., 1986.- The Mussel Watch Concept. Envir. Monit. Ass., 7(1), 91-104.
- JEANTET A.Y., BALLAN-DUFRAUCAIS C., MARTOJA R., 1977.- Insect resistance to mineral pollution. Importance of spherocrystals in ionic regulation. Rev. Ecol. Biol. Sol., 14(4), 563-582.
- MORGAN A.J., 1984.- The localisation of heavy metals in the tissues of terrestrial invertebrates by electron microprobe X-ray analysis. In: "Scanning Electron Microscopy" IV, SEM Inc., AMF O'Hare (Chic.), 1 60666 USA, 1847-1865.
- NIE H.N., HULL C.H., 1981.- SPSS Update 7-9, Mc Graw-Hill N.Y., 402p.
- RAES H., BOHYN W., JACOBS F., Apidologie. Sous presse.
- SIMKISS K., 1979.- Metal ions in cells. Endeavour, N.S., 3, 2-6.
- SOHAL R.S., PETERS P.D., HALL T.A., 1977.- Origin, ultra-structure, composition and age dependence of mineralised dense bodies (concretions) in the midgut epithelium of the adult housefly Musca domestica. Tiss. Cell, 9, 87-102.