



**HAL**  
open science

## Effets des néonicotinoïdes et du fipronil sur les invertébrés

L. W. Pisa, V. Amaral-Rogers, L. P. Belzunces, Jean-Marc Bonmatin, C. A. Downs, D. Goulson, D. P. Kreutzweiser, C. Krupke, M. Liess, M. Mcfield, et al.

► **To cite this version:**

L. W. Pisa, V. Amaral-Rogers, L. P. Belzunces, Jean-Marc Bonmatin, C. A. Downs, et al.. Effets des néonicotinoïdes et du fipronil sur les invertébrés. 2015, pp.68-102. 10.1007/s11356-014-3471-x . hal-01171771

**HAL Id: hal-01171771**

**<https://hal.science/hal-01171771v1>**

Submitted on 6 Mar 2020

**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.

## Effets des néonicotinoïdes et du fipronil sur les invertébrés

L. W. Pisa & V. Amaral-Rogers & L. P. Belzunces & J. M. Bonmatin & C. A. Downs & D. Goulson & D. P. Kreutzweiser & C. Krupke & M. Liess & M. McField & C. A. Morrissey & D. A. Noome & J. Settele & N. Simon-Delso & J. D. Stark & J. P. Van der Sluijs & H. Van Dyck & M. Wiemers

(Voir Tableaux et bibliographie dans l'article original en anglais sur le site  
<http://link.springer.com/article/10.1007/s11356-014-3471-x> )

Received : 8 mai 2014 / Accepted : 15 août 2014 / Published online 17septembre 2014  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

---

Responsible editor: Philippe Garrigues

---

L. W. Pisa (\*) : N. Simon-Delso : J. P. Van der Sluijs  
Environmental Sciences, Copernicus Institute, Utrecht  
University, Heidelberglaan 2, 3584 CS Utrecht, The  
Netherlands e-mail: l.w.pisa@uu.nl

V. Amaral-Rogers Buglife, Bug House, Ham Lane, Orton  
Waterville, Peterborough PE2 5UU, UK

L. P. Belzunces Laboratoire de Toxicologie  
Environnementale, INRA, UR 406 Abeilles & Environnement,  
Site Agroparc, 84000 Avignon, France

J. M. Bonmatin Centre de Biophysique Moléculaire, UPR  
4301 CNRS, affiliated to Orléans University and to INSERM,  
45071 Orléans cedex 02, France

C. A. Downs Haereticus Environmental Laboratory, P.O.  
Box 92, Clifford, VA 24533, USA

D. Goulson School of Life Sciences, University of Sussex,  
Sussex BN1 9RH, UK

D. P. Kreutzweiser Canadian Forest Service, Natural  
Resources Canada, 1219 Queen Street East, Sault Ste Marie,  
ON P6A 2E5, Canada

C. Krupke Department of Entomology, Purdue University,  
West Lafayette, IN, USA

M. Liess Department System-Ecotoxicology, Helmholtz  
Centre for Environmental Research, UFZ, Permoserstrasse 15,  
04318 Leipzig, Germany

M. McField Healthy Reefs for Healthy People Initiative,

Smithsonian Institution, Belize City, Belize

C. A. Morrissey Department of Biology and School of  
Environment and Sustainability, University of Saskatchewan,  
112 Science Place, Saskatoon, SK S7N 5E2, Canada

D. A. Noome Task Force on Systemic Pesticides, 46, Pertuis-  
du-Sault, 2000 Neuchâtel, Switzerland

D. A. Noome Kijani, Kasungu National Park, Private Bag  
151, Lilongwe, Malawi

J. Settele : M. Wiemers Department of Community Ecology,  
Helmholtz-Centre for Environmental Research, UFZ,  
Theodor-Lieser-Str. 4, 06120 Halle, Germany

J. Settele German Centre for Integrative Biodiversity  
Research (iDiv), Halle-Jena-Leipzig, Deutscher Platz 5e,  
04103 Leipzig, Germany

N. Simon-Delso Beekeeping Research and Information  
Centre (CARI), Place Croix du Sud 4, 1348 Louvain-la-  
Neuve, Belgium

J. D. Stark Puyallup Research and Extension Centre,  
Washington State University, Puyallup, WA 98371, USA

J. P. Van der Sluijs Centre for the Study of the Sciences and  
the Humanities, University of Bergen, Postboks 7805, 5020  
Bergen, Norway

H. Van Dyck Behavioural Ecology and Conservation Group,  
Biodiversity Research Centre, Earth and Life Institute,  
Université Catholique de Louvain (UCL), Croix du Sud 4-5,  
bte L7.07.04, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

**Résumé.** Nous avons évalué l'état des connaissances concernant les effets de la pollution à grande échelle, résultant de l'usage des insecticides néonicotinoïdes et du fipronil, sur les espèces d'invertébrés non-cibles terrestres, d'eau douce et marins. Une grande partie de l'évaluation est consacrée à l'état des connaissances sur les effets sublétaux sur les abeilles (*Apis mellifera*) car cet important pollinisateur est la plus étudiée des espèces invertébrées non-cibles. Les lépidoptères (papillons diurnes et nocturnes), les lombricidés (vers de terre), les apoïdés sensu lato (bourdons et abeilles solitaires) et la section « autres invertébrés », font l'objet d'une revue des études disponibles sur les autres espèces terrestres. Les sections sur les espèces d'eau douce et marines sont plutôt réduites en raison du peu de connaissances actuelles sur l'impact des insecticides néonicotinoïdes et du fipronil sur les divers invertébrés de ces habitats largement exposés.

Pour les espèces d'invertébrés terrestres et aquatiques, les effets connus des pesticides néonicotinoïdes et fipronil vont des effets toxicologiques sur les organismes et le comportement aux effets au niveau de la population. Pour les vers de terre, les espèces d'eau douce et marines, le rapport des résultats de l'évaluation réglementaire des risques est décrit. Les insecticides néonicotinoïdes exposent un large éventail d'invertébrés à une très forte toxicité, en particulier les insectes, et l'exposition aux conditions réalistes de terrain est susceptible d'avoir à la fois des impacts mortels et un large éventail d'effets sublétaux importants. On doit déplorer des lacunes majeures de connaissance concernant les impacts sur la grande majorité des invertébrés dont beaucoup jouent des rôles essentiels permettant le bon fonctionnement des écosystèmes. Les données sur les quelques espèces non-cibles sur lesquelles des tests sur le terrain ont été réalisés sont limitées par les défauts majeurs de protocoles périmés utilisés. Malgré de grandes lacunes et des incertitudes de connaissances, il existe néanmoins une connaissance suffisante pour conclure que les niveaux actuels de pollution par les néonicotinoïdes et le fipronil, résultant actuellement d'usages autorisés, dépassent fréquemment les plus faibles concentrations sans effet nocif observé (LOEC) et sont donc ainsi susceptibles d'avoir à grande échelle une large gamme d'effets biologiques négatifs et des impacts écologiques sur un large éventail d'invertébrés non-cibles dans les habitats terrestres, aquatiques, marins et benthiques.

**Mots clés.** Pesticides. Néonicotinoïdes. Fipronil. Espèces non-cibles. Invertébrés. Abeilles. Vers de terre. Papillons. Habitats d'eau douce. Habitats marins.

## Introduction

Les néonicotinoïdes et le fipronil sont relativement nouveaux, largement utilisés, ce sont des composés systémiques, des produits de protection des plantes conçus pour tuer les insectes qui causent des dommages aux cultures. Ils sont également utilisés en médecine vétérinaire pour lutter contre les parasites tels que les puces, les tiques et les vers des animaux domestiques et des biocides pour lutter contre les ravageurs non-agricoles. Les autres articles de ce numéro

spécial ont montré que les insecticides néonicotinoïdes et fipronil actuellement utilisés à très grande échelle (par exemple, Simon-Delso et al. 2014, ce numéro), sont très persistants dans les sols et ont tendance à s'y accumuler de même que dans les sédiments, ont un haut potentiel de ruissellement vers les eaux de surface et les eaux souterraines et de lixiviation et ont été détectés fréquemment dans l'environnement dans le monde (Bonmatin et al. 2014, ce numéro). Les effets de l'exposition à une pollution à grande échelle de ces produits chimiques neurotoxiques sur les insectes non-cibles, et éventuellement d'autres invertébrés, peuvent être attendus car déjà identifiés pour d'autres insecticides. Cependant, pour la majorité des espèces d'insectes et d'autres invertébrés qui sont susceptibles d'être exposés à des néonicotinoïdes et au fipronil en agriculture ou dans des écosystèmes (semi-) naturels, pas ou très peu d'informations sont disponibles quant à l'impact de ces pesticides sur leur biologie. Ici, nous évaluons l'état actuel des connaissances sur les effets sur les invertébrés terrestres et aquatiques.

## Invertébrés terrestres

### *Les abeilles*

De nombreuses études ont porté sur l'étude des effets des néonicotinoïdes et du fipronil sur les abeilles (*Apis mellifera*). Outre la valeur de productions culturelle et de miel, l'abeille est l'espèce pollinisatrice la plus docile et critique pour la production de la plupart des cultures les plus importantes du monde (Klein et al. 2007 ; Breeze et al. 2011). Les pertes d'abeilles sont généralement mesurées en perte hivernale aux niveaux régional et national, les constats montrent que les populations d'abeilles domestiques subissent des pertes élevées dans de nombreuses régions du monde (Oldroyd 2007 ; Stokstad 2007 ; van Engelsdorp et Meixner 2010 ; Van der Zee et al. 2012a, b).

Aucune cause unique pour ces pertes élevées n'a été identifiée, et les pertes sont considérées comme multifactorielles incluant les pesticides, la perte d'habitat, les agents pathogènes, les parasites et les facteurs environnementaux (Decourtye et al. 2010 ; Mani et al. 2010 ; Neumann et Carreck 2010 ; Kluser et al. 2011). Outre les facteurs biotiques et abiotiques directs, les changements dans les populations d'abeilles dépendent aussi de la valeur économique des abeilles et donc des humains (Aizen et Harder, 2009 ; Mani et al. 2010). Les néonicotinoïdes sont parmi les insecticides les plus utilisés dans le monde entier et sont donc des candidats de choix pour l'étude des relations possibles avec les fortes pertes d'abeilles.

### *Toxicité aiguë et chronique pour les abeilles*

Les néonicotinoïdes et le fipronil montrent une forte toxicité aiguë pour les abeilles (tableau 1). La famille des néonicotinoïdes comprend l'imidaclopride, la clothianidine et le thiaméthoxame (ce dernier est métabolisé en clothianidine dans la plante et dans l'insecte). L'imidaclopride, la clothianidine et le thiaméthoxame appartiennent aux

néonicotinoïdes contenant des groupes nitro, un groupe qui est généralement plus toxique que les néonicotinoïdes contenant le groupe cyano, ce qui inclut l'acétamipride et le thiaclopride. Bien que les néonicotinoïdes soient appliqués comme insecticides foliaires avec le risque d'une exposition directe des abeilles, l'enrobage de semences ou le traitement par trempage des racines représentent une grande partie de l'utilisation des néonicotinoïdes. Le fipronil appartient à la famille des pesticides phénylpyrazoles et, comme les néonicotinoïdes, a des propriétés systémiques (Simon-Delso et al. 2014).

Étant donné que les néonicotinoïdes et le fipronil agissent par systémie dans les plantes, les doses létales par voie orale pour les abeilles ont été étudiées de manière extensive pour ces composés. Contrairement à beaucoup d'anciennes classes d'insecticides, les néonicotinoïdes peuvent être plus toxiques lorsqu'ils sont ingérés (Suchail et al. 2001 ; Iwasa et al. 2004). Le niveau de néonicotinoïdes et de fipronil auquel les abeilles sont exposées par le nectar et le pollen des plantes traitées varie considérablement, même s'il existe des tendances en fonction du mode d'application. En général, les méthodes par trempage du sol et pulvérisation foliaire conduisent à des concentrations de composés actifs dans les plantes plus élevées que les traitements par enrobage de semences, cette dernière application étant la plus utilisée dans les systèmes de grandes cultures annuelles comme celles des céréales, du coton et des oléagineux.

Dans la pratique, la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) de ces pesticides pour l'abeille varie en fonction d'un large éventail de conditions biotiques et abiotiques. La DL<sub>50</sub> de l'imidaclopride par exemple, est comprise entre 3,7 et 40,9 ou 40 et 60 ou 49 et 102 et 490 ng/abeille (Nauen et al. 2001 ; Schmuck et al. 2001 ; Suchail et al. 2001 ; DEFRA 2007, 2009). Cette variation, d'un facteur 100 (5-500 ng / abeille), a été observée non seulement entre les colonies, mais aussi chez les abeilles prises à partir d'une seule colonie. Une composante importante de cette variation observée provient probablement de la différence entre le contact et la toxicité orale de ces composés, les doses létales de contact étant généralement plus élevées que les doses létales orales. Cependant, le contact avec les pièces florales est fréquent lorsque les abeilles visitent les fleurs, mais ceci est différent de l'application locale utilisée dans des conditions de laboratoire.

D'autres sources de variabilité peuvent être attribuées à des différences dans les conditions environnementales lors des essais ainsi qu'à des différences inhérentes aux conditions des abeilles testées elles-mêmes. Par exemple, les données ont montré que les valeurs mesurées de DL<sub>50</sub> pour les abeilles varient avec la température, l'âge des abeilles (Medrzycki et al. 2011) (Schmuck 2004 ; Medrzycki et al. 2011), les sous-espèces d'abeilles testées (Suchail et al. 2000), le mode d'exposition (Illarionov 1991 ; Belzunces 2006) et par une exposition antérieure des abeilles aux pesticides (Belzunces 2006). Compte tenu de la grande variabilité des données toxicologiques chez les abeilles il a été suggéré que les valeurs de la DL<sub>50</sub> ne devraient être seulement utilisées que pour comparer les niveaux de toxicité parmi les pesticides plutôt que de tirer des conclusions sur le risque de mortalité posé

pour les abeilles via l'exposition environnementale aux pesticides (Belzunces 2006).

L'exposition subchronique par voie orale à l'imidaclopride et à six de ses métabolites induit une forte toxicité à des concentrations de 0,1 ppb, 1 ppb et 10 ppb (partie par milliard) ou ng/g, alors que les métabolites oléfine-imidaclopride et 5-OH-imidaclopride furent toxiques aux expositions aiguës. La principale caractéristique de la toxicité subchronique est l'absence d'une relation dose-effet claire qui pourrait rendre compte d'un effet maximal de la concentration la plus faible en raison de l'existence de cibles moléculaires multiples, comme cela a été démontré chez l'abeille (Déglise et al. 2002 ; Thany et al. 2003 ; Thany et Gauthier 2005 ; Barbara et al. 2008 ; Gauthier 2010 ; Dupuis et al. 2011 ; Bordereau-Dubois et al. 2012). L'absence de relations dose-effet claires a également été observée dans d'autres études, à des concentrations plus élevées (Schmuck 2004).

L'existence de relations dose-réponse non-monotones implique que certains produits chimiques, y compris les néonicotinoïdes, ont des effets inattendus et puissants à (très) faibles doses. Ces modèles non-linéaires et souvent contre-intuitifs sont dus à l'interaction complexe entre le récepteur lié et les effets de reprogrammation génétique de ces substances laquelle peut générer des relations dose-réponse inattendues, dont beaucoup sont encore en cours d'étude (Fagin 2012 ; Charpentier et al. 2014). Cela pose des défis majeurs à l'évaluation des risques basée sur le modèle log-probit classique.

Comme précédemment examiné par van der Sluijs et al. (2013), il n'y a pas de protocoles normalisés pour mesurer les effets létaux chroniques. Dans l'évaluation traditionnelle des risques des pesticides, ces derniers sont généralement exprimés de trois manières : la DL<sub>50</sub>, i.e., la dose à laquelle 50% des abeilles exposées sont mortes (généralement dans un laps de temps de 10 jours) ; la concentration sans effet observé (NOEC), i.e., la concentration la plus haute d'un pesticide produisant aucun effet observé ; et la plus faible concentration pour un effet observé (LOEC), i.e., la plus faible concentration d'un pesticide produisant un effet observé.

Pour l'imidaclopride, y compris ses métabolites neurotoxiques, la toxicité létale peut augmenter jusqu'à 100 000 fois par rapport à la toxicité aiguë lorsque l'exposition est prolongée dans le temps (Suchail et al. 2001). Il y a eu une certaine controverse sur les résultats de cette étude qui sont examinés en détail par Maxim et Van der Sluijs (2007, 2013). Cependant, la principale conclusion qui met en évidence que la durée d'exposition amplifie la toxicité de l'imidaclopride est cohérente avec les résultats plus tardifs, ce qui implique, compte tenu de leur persistance et donc de la probable exposition chronique des abeilles dans les conditions de terrain, que la durée de 10 jours du test standard de toxicité chronique pour les abeilles est bien trop courte pour tester les néonicotinoïdes et le fipronil. En effet, les abeilles nourries au 10<sup>-1</sup> de la CL<sub>50</sub> du thiaméthoxame ont subi une réduction de 41,2% de leur durée de vie (Oliveira et al. 2013). Des études récentes ont montré que la toxicité chronique des néonicotinoïdes peut être plus adéquatement exprimée par le temps pour obtenir 50% de mortalité d'un lot d'abeilles au lieu

d'utiliser la  $DL_{50}$  à 10 jours (Sánchez-Bayo 2009 ; Maus et Nauen 2010 ; Tennekes 2010 ; Tennekes 2011 ; Tennekes et Sánchez-Bayo 2012 ; Mason et al. 2013 ; Rondeau et al. 2014). Il existe une relation linéaire entre le logarithme de la dose quotidienne et le logarithme du temps pour obtenir 50% de mortalité (Tennekes 2010, 2011 ; Tennekes et Sánchez-Bayo 2012 ; Tennekes et Sánchez-Bayo 2013 ; Rondeau et al. 2014). Sanchez-Bayo et Goka (2014) ont montré que les résidus dans les conditions réalistes de terrain des insecticides néonicotinoïdes dans le pollen présentent un risque élevé pour les abeilles et les bourdons, tandis que, toujours dans ces conditions au champ, les synergies au champ avec un fongicide inhibiteur de l'ergostérol amplifient encore ces risques. Ils ont constaté que l'imidaclopride pose le risque le plus élevé pour les bourdons (31,8 à 49% de probabilité d'atteindre la médiane de la dose cumulée létale au bout de 2 jours en se nourrissant de pollen dans les conditions réalistes de terrain), le thiaméthoxame présente le risque le plus élevé pour les abeilles (de 3,7 à 29,6% de probabilité d'atteindre cette médiane). Dans les expériences similaires avec les colonies d'abeilles, les effets chroniques à long terme ont été relevés avec des temps typiques de 80-120 jours pour 1ppm de dinotéfurane et 400 ppb de clothianidine (Yamada et al. 2012). On notera que ces études ont utilisé des concentrations qui sont à la limite supérieure de l'éventail des concentrations rapportées trouvées actuellement dans le pollen et le nectar au champ. Toutefois, ces données sont rares et limitées à quelques cultures, de sorte qu'on ne peut encore savoir si ces concentrations sont rares ou communes au champ - la question « de la dose pertinente au champ » n'est donc pas encore entièrement résolue, et il est probable qu'il existe un large éventail de ces valeurs dans l'espace et le temps (Van der Sluijs et al. 2013).

Les études de terrain et de laboratoire qui essaient de tester les doses létales dans les conditions de terrain ont obtenu des résultats variables, souvent contradictoires. Dans une étude, l'exposition chronique orale ou par contact pendant 10 à 11 jours à 1 µg/abeille d'acétamipride et 1000 µg/abeille de thiaméthoxame n'a pas entraîné une mortalité importante des ouvrières (Aliouane et al. 2009). A l'inverse, des études en laboratoire sur l'imidaclopride ont montré une forte mortalité des ouvrières lorsque les abeilles consommaient du pollen contaminé (40 ppb) (Decourtye et al. 2003, 2005) et du sirop de sucre contaminé (0,1 ppb, 1,0 ppb et 10 ppb) (Suchail et al. 2001). Ces résultats sont contraires à ceux des études de terrain effectuées par Schmuck et al. (2001), qui n'ont observé aucune augmentation de la mortalité des ouvrières lorsque les colonies étaient exposées au nectar de tournesol contaminé par l'imidaclopride à des taux de 2,0 à 20 µg/kg. Faucon et al. (2005) n'ont également constaté aucune mortalité des ouvrières dans une étude de terrain d'abeilles nourries de sirop de sucre contenant de l'imidaclopride. Une méta-analyse de Cresswell (2011) a conclu que l'exposition à l'imidaclopride par voie orale à des concentrations réalistes de terrain n'entraînait pas de mortalité des ouvrières, bien qu'une étude ultérieure de Yamada et al. (2012) nourrissant dans une gamme de concentrations de dinotéfurane de 1 ppm à 10 ppm, et pour la clothianidine de 0,4 ppm à 4 ppm, ait démontré une défaillance de la colonie à 104 jours dans chaque cas, ce qui

suggère que la détection des effets au niveau de la colonie peut exiger une observation en post-exposition plus longue.

Les études de terrain pour investiguer les conséquences de l'exposition aux pesticides des abeilles sont confrontées à des difficultés majeures. Pour l'analyse des très faibles concentrations de composés présents dans le pollen, le nectar, les abeilles ou d'autres matrices, des méthodes appropriées qui répondent à des critères de validité d'une analyse quantitative doivent être développées. Pilling et al. (2013) ont exposé des abeilles à du maïs et du colza traités au thiaméthoxame maïs, bien que cela puisse être le résultat de ces auteurs utilisant une application de traitement de semences à une concentration plus basse que celle utilisée dans la pratique agricole normale, ils ne sont pas parvenus à quantifier les concentrations inférieures à 1 ppb. Même si deux colonies, une traitée et une de contrôle, ont subi des pertes relativement élevées (la plupart du temps les reines ne produisant que du couvain de mâles) les auteurs ont été incapables d'entreprendre une quelconque analyse statistique en raison d'un manque de réplication, ils en ont conclu, à tort, que l'exposition à du maïs ou du colza traités représentait un faible risque pour les abeilles.

Aussi, en termes d'activité et de comportement alimentaire, les abeilles pourraient ne pas butiner les cultures traitées (exactement) de la même manière qu'elles le feraient sur des cultures non traitées (Colin et al. 2004). De plus, la comparaison entre des zones traitées et non-traitées peut être totalement faussée parce que les champs de contrôle pourraient ne pas être « propres » mais traités avec d'autres pesticides, y compris des insecticides. L'étude récente de Pilling et ses collègues sur le thiaméthoxame (Pilling et al. 2013) illustre cette affaire, car elle n'a pas fourni d'informations sur l'état du traitement des parcelles témoins.

Pour chacune des masses d'abeilles mortes au printemps à proximité des champs de maïs pendant le semis de semences traitées au néonicotinoïde il y a maintenant un lien de causalité avéré. L'intoxication aiguë se produit en raison de l'exposition au nuage de poussière autour des semoirs pneumatiques pendant les vols pour la recherche de nourriture dans les forêts adjacentes (fourniture de miellat) ou dans les champs de fleurs à proximité (APENet 2010 ; Girolami et al. 2012 ; Tapparo et al. 2012 ; Krupke et al. 2012 ; Pochi et al. 2012 ; Tapparo et al. 2012). Dans ces cas, les abeilles mortes ont généralement des niveaux élevés de contamination par les poussières de semences traitées aux néonicotinoïdes que ce soit sur ou dans leur corps. De telles pertes massives de colonies pendant le semis de maïs ont été documentées en Italie, en Allemagne, en Autriche, en Slovaquie, aux Etats-Unis et au Canada (Gross 2008 ; Krupke et al. 2012 ; Sgolastra et al. 2012 ; Tapparo et al. 2012). En réponse à ces incidents, l'adhésion de l'enrobage aux semences a été améliorée grâce à une meilleure réglementation à laquelle s'ajoute une amélioration de la technique de semis récemment devenue obligatoire dans toute l'Europe (Commission européenne 2010). Cependant, malgré le déploiement de déflecteurs pour les semoirs et l'amélioration des techniques de revêtement des semences, les émissions restent importantes et le nuage de poussière reste extrêmement toxique pour les abeilles (Biocca et al. 2011 ; Marzaro et al. 2011 ; Girolami et al. 2012 ; Tapparo et al. 2012 ; Sgolastra et al. 2012).

Les effets aigus létaux de néonicotinoïdes dispersés en particules dans l'air semblent être accentués par une humidité importante de l'environnement (Girolami et al. 2012). Les abeilles transportent également des particules de poussières toxiques via leurs corps dans la ruche (Girolami et al. 2012). Des journées ensoleillées et chaudes semblent aussi favoriser la dispersion des substances actives (Greatti et al. 2003).

#### *Les effets sublétaux sur les abeilles*

*Effets sur l'activité, la locomotion, le métabolisme et le développement ontogénétique.* Il a été démontré que l'imidaclopride, le thiaméthoxame et la clothianidine induisent rapidement une paralysie musculaire du vol, chez les abeilles exposées aux gouttes de guttation contenant ces substances, entraînant la cessation du mouvement des ailes (Girolami et al. 2009). L'imidaclopride compromet davantage la mobilité des abeilles, comme en témoignent la baisse de performance à la course et à la marche et l'augmentation de la durée durant laquelle les abeilles exposées demeurent immobiles (Medrzycki et al. 2003). Toutefois, lorsqu'elles sont exposées à des doses subchroniques de néonicotinoïdes, la réduction de la mobilité n'a pas été observée chez les abeilles ni chez les bourdons par Cresswell et al. (2012b).

Le développement ontogénétique est une période cruciale qui détermine l'intégrité physiologique et fonctionnelle des individus adultes. Ainsi, en plus des effets sur les adultes, les néonicotinoïdes peuvent agir sur le développement des larves avec des conséquences au stade adulte. Les abeilles adultes exposées à l'imidaclopride au cours du stade larvaire ont une déficience du comportement associé à l'olfaction (Yang et al. 2012). Cela pourrait être dû à une altération du développement neural. Des déficiences dans le développement du corps pédonculé dans le cerveau de l'abeille et dans le comportement de marche des ouvrières ont été observées chez les individus exposés à l'imidaclopride au cours de la période larvaire (Tomé et al. 2012). Les effets sur les abeilles adultes exposées durant le stade larvaire pourraient également être attribués à l'induction de la mort cellulaire due à l'imidaclopride chez les larves (Gregorc et Ellis 2011). Dans les premiers stades de la vie adulte, après l'émergence, l'imidaclopride peut perturber le développement des glandes hypo-pharyngales en diminuant la taille des acini et en augmentant l'expression de hsp70 et hsp90 (Smolis Skerl et al. 2009 ; Hatjina et al. 2013). Derecka et al. (2013) ont fourni à des ruches sur le terrain pendant 15 jours du sirop contaminé à la concentration de 2 µg/L d'imidaclopride. Ils ont constaté que ces niveaux d'imidaclopride, en bas de la gamme des conditions réalistes de terrain, ont un impact significatif sur le métabolisme énergétique des larves et des ouvrières.

Les impacts des pesticides sur le métabolisme peuvent affecter la détoxification, les voies métaboliques intermédiaires et énergétiques. L'imidaclopride altère le métabolisme du cerveau chez l'abeille ce qui conduit à une augmentation du cytochrome oxydase dans les corps pédonculés (Decourtye et al. 2004a, b).

*Effets sur le comportement, l'apprentissage et la mémoire.* Le fonctionnement optimal du système nerveux des abeilles est

essentiel pour l'individu et le fonctionnement de la colonie (Desneux et al. 2007 ; Thompson et Maus 2007). Des niveaux croissants d'effort de recherche ont été consacrés à l'élaboration d'une meilleure compréhension de la façon dont l'exposition sublétale aux néonicotinoïdes et au fipronil peuvent affecter le système nerveux des abeilles. Il est prouvé que l'exposition sublétale peut affecter l'apprentissage, la mémoire et l'orientation des abeilles.

Des expériences en laboratoire d'administration d'une dose unique d'imidaclopride ont démontré une modification de la capacité d'apprentissage (2001 Guez et al. ; Lambin et al. 2001), et l'exposition à des doses sublétales chroniques a démontré que l'apprentissage et la recherche de nourriture sont affaiblis par l'imidaclopride et le fipronil (Decourtye et al. 2003). En outre, il a été démontré que le thiaméthoxame décroît la capacité de mémorisation (Aliouane et al. 2009). Les méthodologies et les doses varient dans ces tests de laboratoire, mais toutes utilisent des concentrations au dessus de 20 ppb ; ce taux est à la limite supérieure des concentrations trouvées dans la plupart des situations de terrain. Ces concentrations ne seraient pas censées être trouvées dans le pollen ou le nectar suite aux applications de semences traitées, mais elles ont été trouvées dans les fleurs de cucurbitacées après des trempages du sol (Dively et Crochets 2010). Les expériences de terrain offrent la possibilité d'utiliser des tests puissants ; cependant, les résultats ont été mixés et de nombreuses études ont ciblé l'orientation des abeilles vers et au retour d'une source d'alimentation. Une étude dans laquelle les butineuses ont reçu en récompense du sirop de sucre dans un labyrinthe complexe a démontré que 38% des abeilles ont trouvé la source de nourriture contenant 3 ng/abeille de thiaméthoxame, alors que 61% d'un groupe témoin non exposé l'ont trouvée (Decourtye et Devillers 2010). Une série d'études utilisant des butineuses entraînées à s'orienter vers un réservoir de sucre a constaté que les butineuses ont été incapables de revenir à la ruche après l'ingestion d'imidaclopride à des concentrations allant de 100 ppb à 1000 ppb (Bortolotti et al. 2003 ; Ramirez-Romero et al. 2005 ; Yang et al. 2008). En revanche, d'autres études en conditions semi-naturelles n'ont montré aucun effet sur la recherche de nourriture ou sur la survie suite à une exposition par le colza, le maïs et le tournesol issus de semences traitées avec des néonicotinoïdes (Schmuck et al. 2001 ; Cutler et Scott-Dupree 2007 ; Nguyen et al. 2009). Les explications possibles de ces résultats contradictoires peuvent être que lorsqu'une gamme de possibilités d'alimentation est donnée, les abeilles peuvent réduire leurs visites aux sources de nourriture contenant des pesticides (Mayer et Lunden 1997 ; Colin et al. 2004), ou que les néonicotinoïdes n'ont pas d'effets sur les colonies dans les régimes d'exposition testés ici.

Récemment, Henry et al. (2012a, b) ont décrit les résultats d'expériences de terrain innovantes utilisant l'identification par radio fréquence (RFID) pour déterminer les effets au niveau de la colonie de l'endommagement de la capacité d'orientation des butineuses nourries avec une dose sublétale d'imidaclopride (1,42 ng dans 20 µg de sirop de saccharose). Dans deux expériences distinctes, les butineuses traitées n'ont

pas réussi à revenir à la colonie, aux taux de 10,2 et 31,6%, par rapport aux butineuses non traitées se nourrissant des mêmes plantes à fleurs. Le risque plus élevé de non retour a été associé à des difficultés plus grandes à s'orienter. Utilisant ces taux de perte de butineuses, les chercheurs ont modélisé les effets au niveau de la colonie et en ont trouvé de significatifs, largement cohérents par rapport aux taux de croissance d'une colonie normale, dans certains cas, à des niveaux qui peuvent conduire la colonie au risque d'effondrement. Une suggestion subséquente faite par Cresswell et Thompson (2012) de modifier légèrement la simulation pour tenir compte de la période où les cultures de semences traitées sont au stade de la floraison a démontré que le risque d'effondrement n'était plus évident. Cependant, un calcul de suivi par Henry et al. (2012a) en utilisant un ensemble de données plus vaste qui intègre de façon empirique les estimations de croissances des colonies ont révélé des écarts encore plus élevés par rapport à la normale que l'expérience originale : un résultat négatif plus grave pour les colonies. Les résultats variables basés sur le modèle d'hypothèses reflètent les incertitudes sur les abeilles qui ont frappé les chercheurs et soulignent en outre l'importance de veiller à ce que ces modèles soient robustes et représentent un éventail de scénarios. La principale contribution de ce travail fut la démonstration que des doses sublétales peuvent imposer un stress (i.e. un non-retour des butineuses) qui peut avoir des conséquences négatives importantes sur le plan de la colonie.

L'apprentissage et la mémoire représentent des fonctions fondamentales impliquées dans l'interaction des individus avec leur environnement, fonctions qui sont essentielles pour permettre aux abeilles de répondre aux besoins de la colonie tout au long de leur vie. L'imidaclopride nuit à l'apprentissage et à la performance olfactive par deux voies, l'exposition aiguë et l'exposition chronique, et les abeilles en été semblent plus sensibles que les abeilles en hiver (Decourtye et al., 2003). Ces effets sont observés non seulement au laboratoire mais également en conditions semi-naturelles, et les abeilles ne se rétablissent pas après la fin de l'exposition. Les résultats obtenus avec l'acétamipride et le thiaméthoxame ont montré que l'action des néonicotinoïdes dépend du niveau/degré d'exposition et ne peut être généralisée à des composés de structure voisine. Contrairement à l'exposition par contact, l'exposition orale à l'acétamipride a entraîné une atteinte à la conservation à long terme de l'apprentissage olfactif (El Hassani et al. 2008). En revanche, pour le thiaméthoxame, une exposition subchronique, mais pas l'exposition aiguë, a provoqué une baisse de la mémoire olfactive et une diminution des performances d'apprentissage (El Hassani et al. 2008 ; Aliouane et al. 2009).

Les néonicotinoïdes ont des voies métaboliques spécifiques chez les insectes, en particulier chez l'abeille, qui conduisent à des influences complexes sur les processus d'apprentissage et de mémoire. L'imidaclopride et le thiaméthoxame sont métabolisés en métabolites toxiques qui peuvent potentiellement se lier à différents récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine des abeilles (Nauen et al. 2001 ; Suchail et al. 2001, 2004a ; Nauen et al. 2003 ; Ford et Casida 2006 ; Benzidane et al. 2010 ; Casida 2011). Du métabolisme de l'acétamipride résulte en apparence différents métabolites chez

l'abeille, parmi lesquels l'acide 6-chloronicotinique est toxique par exposition chronique, mais pas par exposition aiguë et reste stable pendant au moins 72 h, en particulier dans la tête et le thorax (Suchail et al. 2001, 2004a ; Brunet et al. 2005). Compte tenu de la présence de multiples métabolites actifs au fil du temps, il est très difficile de vérifier quelles étapes du processus de la mémoire (acquisition, consolidation ou récupération) sont touchées par l'imidaclopride, l'acétamipride, le thiaméthoxame ou leurs métabolites.

L'habituation peut être définie comme « une forme d'apprentissage qui consiste en la diminution progressive et relativement prolongée de l'intensité ou de la fréquence d'une réponse suite à la stimulation répétée ou prolongée responsable de susciter une telle réaction » (Braun et Bicker 1992 ; Epstein et al. 2011a, b ; Belzunces et al. 2012). L'habituation peut être considérée comme un comportement adaptatif important car il permet aux individus de réduire au minimum leur réponse et, par conséquent, leur investissement énergétique vers des stimuli sans importance. L'imidaclopride modifie les tendances d'habituation des abeilles après une exposition par contact à une dose sublétales (Guez et al. 2001 ; Lambin et al. 2001). L'imidaclopride induit des changements dans l'habituation qui semblent varier en fonction de l'âge des abeilles et la durée post-exposition. En outre, ces changements dans l'habituation peuvent être dus à des facteurs tels qu'une sensibilité différentielle des différents récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) à l'imidaclopride (Déglise et al. 2002 ; Thany et al. 2003 ; Thany et Gauthier 2005 ; Barbara et al. 2008 ; Gauthier 2010 ; Dupuis et al. 2011 ; Bordereau-Dubois et al. 2012 ; Farooqui 2013), ou à l'accumulation de métabolites de l'imidaclopride comme l'oléfine et le 5-hydroxy-imidaclopride, ce qui peut respectivement retarder ou accélérer d'habituation (Guez et al. 2001, 2003).

L'olfaction et le goût sont des sens physiologiques très importants pour les abeilles (Detzel et Clin 1993 ; Giurfa 1993 ; Balderrama et al. 1996 ; Goulson et al. 2001 ; Reinhard et al. 2004 ; Gawleta et al. 2005 ; Couvillon et al. 2010 ; Maisonnasse et al. 2010 ; Kather et al. 2011). Les effets des néonicotinoïdes sur la gustation peuvent être explorés par l'étude de la modulation du seuil gustatif qui peut être défini comme la plus faible concentration d'une solution de saccharose appliqué à l'antenne qui déclenche une réponse d'alimentation. Il a été montré que différents composés actifs induisent des effets différents sur la gustation chez les abeilles. Par exemple, le fipronil augmente le seuil gustatif des abeilles soumises à une exposition par contact (El Hassani et al. 2005). Bien que des résultats similaires ont été trouvés pour l'imidaclopride, l'acétamipride, lui, abaisse le seuil chez les abeilles qui sont exposées par voie orale, mais pas par voie locale (El Hassani et al. 2009). Le thiaméthoxame provoque une diminution de la sensibilité des abeilles au saccharose, et l'exposition à l'acétamipride augmente la réactivité des abeilles à l'eau quelle que soit la voie d'exposition (El Hassani et al. 2008 ; Aliouane et al. 2009).

La différence dans les effets observés peut être expliquée en partie par le métabolisme du néonicotinoïde qui a induit l'apparition des métabolites toxiques (Suchail et al. 2004a, b ; Brunet et al. 2005) et par l'existence de différents nAChR qui sont soit sensibles soit résistants aux différents néonicotinoïdes

(Déglise et al. 2002 ; Thany et al. 2003 ; Thany et Gauthier 2005 ; Barbara et al. 2008 ; Gauthier 2010 ; Dupuis et al. 2011 ; Bordereau-Dubois et al. 2012). Bien qu'il ait été démontré dans la pollinisation par les mouches et les scarabées un effet répulsif de l'imidaclopride et d'autres néonicotinoïdes cet effet n'a pas été étudié chez l'abeille (Easton et Goulson 2013).

Une navigation précise est indispensable pour une recherche de nourriture efficace et, par conséquent, pour la santé et la survie de la colonie. Les néonicotinoïdes et le fipronil peuvent nuire à la navigation de différentes manières. L'exposition des abeilles à des doses sublétales de clothianidine ou d'imidaclopride provoque une diminution de l'activité de recherche de nourriture et induit de plus longs vols pour cette recherche de nourriture (Schneider et al. 2012). Le thiaméthoxame induit une forte mortalité en provoquant une défaillance dans le comportement de retour à la ruche des butineuses, conduisant à de grandes pertes pour la colonie (Henry et al. 2012a, b). Bien que cet effet ait été démontré pour la deltaméthrine, un pyréthrianoïde, depuis près de 20 ans (Vandame et al. 1995), l'impact sur le comportement de retour des butineuses continue d'être exclu du processus d'évaluation pour l'homologation des pesticides.

Un comportement de recherche de nourriture adéquat est essentiel à la fois pour les individus et pour la colonie dans son ensemble, car il détermine la disponibilité de la nourriture (magasins) et, par conséquent, la survie de la colonie. L'exposition à l'imidaclopride, la clothianidine et au fipronil peut conduire à une réduction de la proportion d'abeilles actives dans la ruche et, en outre, initier des comportements qui peuvent réduire l'efficacité du vol des butineuses. Par exemple, les individus exposés peuvent passer de longues périodes à une source de nourriture, diminuer la fréquence de leurs visites, accroître le temps entre les voyages pour la recherche de nourriture, se livrer à de plus longs vols de recherche de nourriture, réduire les distances de recherche de nourriture, faire apparaître l'existence de problèmes en revisitant le même site d'alimentation ou témoigner d'une réduction des capacités d'apprentissage visuel (Nielsen et al. 2000 ; Morandin et Winston, 2003 ; Colin et al. 2004 ; Ramirez-Romero et al. 2005 ; Yang et al. 2008 ; Han et al. 2010 ; Schneider et al. 2012 ; Vacille et al. 2012). Fischer et al. (2014) ont exposé des abeilles adultes à des doses sublétales d'imidaclopride (7,5 et 11,25 ng/abeille), de clothianidine (2,5 ng/abeille) et de thiaclopride (1,25 µg/abeille) et ensuite suivi les trajectoires de vol des abeilles individuellement avec un radar harmonique. Le taux de réussite du retour fut significativement plus faible chez les abeilles traitées, la probabilité d'un tour correct à une structure de paysage remarquable fut réduite et de moins nombreux vols de retour direct à la ruche ont été réalisés. Ces résultats montrent que des doses sublétales de ces trois néonicotinoïdes soit bloquent la récupération en mémoire de la navigation exploratoire soit modifie cette forme de mémoire de navigation. La reproduction et le développement de la colonie peuvent être considérés comme des paramètres intégrés pour évaluer les impacts définitifs des pesticides sur les abeilles car les deux sont une condition obligatoire de la physiologie des insectes sociaux.

Les néonicotinoïdes tels que le thiaclopride, le thiaméthoxame et l'imidaclopride, décroissent la production d'œufs, l'éclosion des larves, le taux de croissance de la colonie et le nombre de reines élevées chez les bourdons (Tasei et al 2000 ; Mommaerts et al. 2010 ; Whitehorn et al. 2012). Des études suggèrent que la réduction de la production de couvain peut être associée à une réduction de la consommation de sucre et de pollen par les abeilles adultes (Laycock et al. 2012a, b). L'élevage des abeilles avec des couvains en rayons contenant des niveaux élevés de résidus de pesticides se traduit par des retards du développement larvaire, de leur émergence, et par une longévité réduite des adultes (Wu et al. 2011). Puisque, dans la dernière étude, les cadres de couvains contenaient cinq néonicotinoïdes à des concentrations relativement élevées, il est difficile d'attribuer les effets observés à l'un quelconque de ces pesticides, ou classe de pesticides. Une étude épidémiologique respectant les critères de Hill (conditions minimales qui prouvent l'existence d'une relation de cause à effet), a révélé des résultats contradictoires concernant l'implication de traces de néonicotinoïdes dans la nourriture dans le déclin des populations d'abeilles (Cresswell et al. 2012a) ne pouvant pas établir un lien de causalité entre les observations du déclin des abeilles et les taux d'utilisation du groupe des néonicotinoïdes.

#### *Interaction avec les agents pathogènes*

Les effets néfastes des pesticides pourraient être augmentés s'ils sont en combinaison avec d'autres agents de stress environnementaux (Mason et al. 2013). Les agents pathogènes et parasites spécifiques sont des compagnons ancestraux de (certaines) populations d'abeilles mais la mise en circulation accidentelle par l'homme de parasites et d'agents pathogènes a exposé à la fois les abeilles mellifères et les abeilles sauvages à des ennemis non-indigènes envers lesquels elles ne peuvent plus offrir qu'une résistance réduite (par exemple Goulson 2003 ; Graystock et al. 2013a, b). L'imidaclopride peut agir en synergie avec l'agent pathogène *Nosema spp.* en augmentant la mortalité induite par le champignon *Nosema* (Alaux et al. 2010). Il (l'imidaclopride) affecte l'immunité sociale et augmente ainsi le nombre de spores de *Nosema* dans les intestins des abeilles provenant de colonies exposées à l'imidaclopride dans des études de cage (Pettis et al. 2012). L'exposition séquentielle au *Nosema ceranae* peut sensibiliser les abeilles au thiaclopride en suscitant une potentialisation qui conduit à des taux de mortalité élevés, une caractéristique partagée avec le fipronil (Vidau et al. 2011 ; Aufauvre et al. 2012). De même, d'autres expériences avec le fipronil et *N. ceranae* ont démontré une sensibilisation réciproque (Aufauvre et al. 2012). En outre, l'exposition aux pesticides pendant le développement embryonnaire et post-embryonnaire peut modifier la sensibilité des abeilles adultes à des agents pathogènes. Par exemple, les abeilles adultes élevés dans des cadres de couvain contenant des niveaux élevés de résidus de pesticides présentent des niveaux plus élevés d'infection par *N. ceranae* et des niveaux plus élevés de spores de *Nosema* (Wu et al. 2012).

Di Prisco et al. (2013) ont démontré que la clothianidine module négativement le facteur nucléaire de la chaîne légère

kappa activateur de cellules B activées (NF- $\kappa$ B, une protéine impliquée dans la transcription de l'ADN) une signalisation immunitaire chez les insectes qui affecte négativement les défenses antivirales des abeilles contrôlées par ce facteur de transcription. Ils ont identifié un modulateur négatif de l'activation de NF- $\kappa$ B spécifique pour les insectes. L'exposition à la clothianidine, en augmentant la transcription du gène codant pour cet inhibiteur, réduit les défenses immunitaires et favorise la réplication du virus de l'aile déformée présente chez les abeilles. Une immunosuppression similaire a été trouvée elle est induite par l'imidaclopride. L'apparition de cette prolifération virale induite par l'insecticide à des doses sublétales, qui sont bien dans les concentrations réalistes de terrain, suggère que les néonicotinoïdes étudiés sont susceptibles d'avoir un effet négatif sur le terrain.

#### *Effets synergiques avec d'autres pesticides*

Dans les écosystèmes agricoles, les abeilles sont rarement exposées à un seul pesticide. Les expositions combinées pourraient s'avérer être particulièrement préoccupantes car elles peuvent susciter des synergies et des potentialisations. Par exemple, le thiaclopride agit en synergie avec des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol (EBI) dans les abeilles exposées dans des conditions de laboratoire, mais pas dans des conditions en tunnel (Schmuck et al. 2003).

Les analyses des abeilles et du contenu de la colonie indiquent que les abeilles sont en effet fréquemment exposées à de multiples pesticides simultanément (Mullin et al. 2010 ; Krupke et al. 2012 ; Paradis et al. 2013). Cependant, l'étude des mélanges de pesticides peut être difficile (Lydy et al. 2004), et il existe une carence d'informations dans la littérature concernant les mélanges rencontrés par les abeilles. Les triazoles, des fongicides, ont été trouvés dans le pollen recueilli dans des colonies (Krupke et al. 2012) et une synergie des toxicités avec certains néonicotinoïdes (acétamipride et thiaclopride) a été démontrée jusqu'à 559 fois au laboratoire, bien que les mêmes résultats ne soient pas représentés dans les études en conditions semi-naturelles (Schmuck et al. 2003). Le butoxyde de pipéronyle a également été trouvé dans le pollen et une synergie des toxicités avec des néonicotinoïdes (acétamipride et thiaclopride) a été démontrée jusqu'à 244 fois au laboratoire (Iwasa et al. 2004). Malgré les défis associés à ce type de recherche ceci est une évidente lacune dans la recherche qui devrait être abordée à l'avenir, étant donné que les abeilles rencontrent rarement un seul pesticide pendant leur recherche de nourriture et/ou dans la ruche.

#### *Toxicité pour les bourdons et les abeilles solitaires*

Les bourdons (genre *Bombus*) sont des abeilles sociales primitives. Les colonies commencent à partir de reines hivernantes qui constituent une population de quelques centaines d'ouvrières adultes puis se décomposent lorsque de nouvelles reines et des mâles sont produits. Un petit nombre d'espèces de bourdons sont élevés pour la pollinisation dans un but commercial, mais les espèces de bourdons non domestiques contribuent aussi considérablement à la

pollinisation des cultures (Chagnon et al. 1993 ; Bosch et Kemp 2006 ; Greenleaf et Kremen 2006 ; Goulson 2010). Les abeilles solitaires qui sont également communément utilisées en milieu agricole comprennent l'abeille découpeuse de la luzerne (*Megachile rotundata*), les abeilles alcalines (*Nomia melanderi*), les abeilles bleues du verger (*Osmia de lignaria*) et les abeilles à face cornue du Japon (*Osmia cornifrons*). *M. rotundata* est la principale pollinisatrice de la luzerne cultivée comme aliment du bétail de haute valeur alimentaire en Amérique du Nord. Elle est souvent considérée comme une espèce domestiquée, bien que les populations se produisent souvent naturellement. Cette espèce a contribué à la production du foin de luzerne pour une valeur estimée à 5,26 milliards de \$ en 2009 (Calderone 2012). En plus des espèces d'abeilles domestiques, il y a plus de 20 000 espèces d'abeilles sauvages dans le monde, dont beaucoup contribuent à la pollinisation des cultures, et toutes contribuent à la pollinisation des fleurs sauvages.

Il existe peu d'études au niveau de la population à long terme incluant les bourdons et d'autres espèces d'abeilles, et, dans de nombreux cas, les effets de l'exposition aux pesticides, et la dose reçue, ne sont pas clairs. Ces espèces diffèrent des abeilles en ce qu'elles utilisent généralement des aires de nourrissage plus petites et préfèrent souvent établir leur nid dans le sol. Par conséquent, les populations situées à proximité d'exploitations agricoles et des applications de pesticides associées peuvent avoir moins d'options alternatives pour les ressources alimentaires et l'habitat. En outre, les espèces nichant au sol peuvent être face à des risques d'exposition supplémentaires (i.e. les sols contaminés par des pesticides) conditions qu'ignorent les abeilles domestiques, mais qui restent à évaluer. Enfin, alors que les bourdons ont tendance à être plus grands, les abeilles solitaires sont souvent plus petites que les abeilles domestiques ; ainsi, ces espèces reçoivent probablement une dose différente par rapport à leur poids corporel que celle que reçoivent les abeilles domestiques.

Les niveaux d'exposition probables des espèces d'abeilles sauvages sont mal connus. Si les niveaux des néonicotinoïdes ont été quantifiés dans le nectar et le pollen de diverses espèces de plantes cultivées (Cresswell 2011 ; Anon 2012), la mesure dans laquelle les abeilles sauvages utilisent ces ressources n'a pas été réalisée concrètement, et, de plus, les valeurs de base de la toxicité, comme la  $DL_{50}$  et la  $CL_{50}$ , font complètement défaut pour la grande majorité de ces espèces. Les quelques études qui existent ont utilisé une gamme de méthodes dont les résultats sont contradictoires, ainsi, tirer des conclusions générales est difficile à ce stade. En outre, ces études sont critiquées pour la faible taille des échantillons, ce qui limite le pouvoir de détecter les effets, et sont aussi critiquées pour les conditions d'évaluations de laboratoire très artificielles.

Il est clair que les néonicotinoïdes et le fipronil sont très toxiques pour toutes les espèces d'abeilles testées à ce jour, lesquelles espèces, en plus des abeilles domestiques, incluent diverses espèces de *Bombus*, plusieurs espèces d'abeilles sociales sans dard et des espèces solitaires : *O. de lignaria* et *M. rotundata* (Scott-Dupree et al. 2009 ; Valdovinos-Núñez et al. 2009 ; Gradish et al. 2010 ; Mommaerts et al. 2010 ; Tomé et al. 2012). Cresswell et al. (2012a, b) ont démontré que les

bourdons présentent des réponses sublétales à l'imidaclopride à 10 ppb, alors que les abeilles domestiques ne sont pas affectées à cette concentration. Scott-Dupree et al. (2009) ont constaté que *O. lignaria* est plus sensible à la fois à la clothianidine et à l'imidaclopride et que *Bombus impatiens* et *M. rotundata* le sont encore plus. Stark et al. (1995) n'ont trouvé aucune différence, pour la DL<sub>50</sub> par contact à 24h avec l'imidaclopride entre les abeilles domestiques et les espèces d'abeilles solitaires *M. rotundata* et *N. melanderi*. Scott-Dupree et al. (2009) ont démontré que les individus *B. impatiens* étaient plus tolérants au thiaméthoxame et à la clothianidine que *O. lignaria* et *M. rotundata*. Toutefois, l'abeille bleue du verger *O. lignaria* présente un retard à l'éclosion et de développement lorsqu'elle consomme de l'imidaclopride à des taux de 30 à 300 µg/kg (Abbott et al. 2008). Arena et Sgolastra (2014) ont comparé la toxicité aiguë de nombreux pesticides et ont constaté que *Scaptotrigona postica* (Euglossine, une abeille sans dard) et *M. rotundata* sont plus sensibles que les abeilles domestiques au fipronil, tandis que *N. melanderi* était plus tolérante. Ensemble, ces résultats suggèrent que ces « autres » abeilles peuvent être au moins aussi sensibles, sinon plus sensibles, aux néonicotinoïdes que les abeilles, bien que plus de recherche soit clairement nécessaire.

Un certain nombre d'études ont utilisé des micro-colonies orphelines de bourdons (ne contenant que des ouvrières) pour examiner les effets sublétaux d'une exposition cumulée aux néonicotinoïdes à de faibles doses réalistes de terrain. Plusieurs n'ont trouvé aucun effet détectable ; par exemple, Tasei et al. (2000) ont exposé des micro-colonies de *Bombus terrestris* à 6-25 ppb d'imidaclopride et n'ont trouvé aucune réponse significative. De même, Franklin et al. (2004) ont exposé *B. impatiens* à des concentrations allant jusqu'à 36 ppb de clothianidine sans détecter d'impacts (voir aussi Morandin et Winston, 2003). Plus récemment, Laycock et al. (2012a, b) ont exposé des micro-colonies de *B. terrestris* à une gamme de concentrations d'imidaclopride (0-125 µg/L) et détecter une réduction de 30% de la fécondité à des doses aussi faibles que 1 ppb. Dans le seul travail comparable à d'autres espèces d'abeilles, Abbott et al. (2008) injectent dans le pollen emmagasiné de *O. lignaria* et *M. rotundata* des concentrations allant jusqu'à 300 ppb de néonicotinoïdes sans impact mesurable sur le développement larvaire.

Fait intéressant, les effets négatifs semblent être détectés plus fréquemment et à des concentrations plus faibles lorsque les abeilles doivent butiner à distance, même lorsque les distances sont faibles. Mommaerts et al. (2010) n'a trouvé aucun impact lors de l'exposition à l'imidaclopride de micro-colonies de *B. terrestris* à des concentrations réalistes de terrain quand la nourriture était fournie dans le nid, mais lorsque les ouvrières ont dû se déplacer de seulement 20 cm dans un tube pour recueillir la nourriture ils ont trouvé des effets sublétaux importants sur l'activité de butinage, avec une concentration médiane d'effets sublétaux (CE<sub>50</sub>) (Concentration Efficace NDT) de seulement 3,7 ppb. Les mêmes chercheurs ont également étudié, dans une serre, les butineuses de colonies ayant une reine où la nourriture se trouvait située à 3 m du nid, ils ont constaté que l'ingestion de 20 ppb d'imidaclopride a entraîné une mortalité importante des

ouvrières, y compris dans le réservoir de nourriture lui-même. Une mortalité significative a également été observée à 10 ppb, mais pas à 2 ppb. Cela peut expliquer pourquoi certaines études de laboratoire ont échoué à trouver des effets.

Avec des effets plus prononcés lorsque les abeilles doivent quitter la colonie, on peut prédire des effets plus marqués lorsque les abeilles butinent naturellement et effectuent des kilomètres dans leur domaine (Knight et al. 2005 ; Osborne et al. 2008). Seules quatre études ont examiné les effets de l'exposition aux néonicotinoïdes sur les abeilles non-Apis quand elles volent librement dans leur milieu. Tasei et al. (2001) ont placé des colonies de *Bombus lucorum* sur le terrain pendant 9 jours, soit en situation adjacente à un champ traité avec de l'imidaclopride, soit en situation de contrôle dans un champ de tournesol. Durant cette période, plus de 54% des butineuses de dix colonies exposées à l'imidaclopride n'ont pas réussi à revenir par rapport aux dix colonies de contrôle ; toutefois, cette différence n'a pas été considérée comme statistiquement significative car les échantillons étaient très petits. Après 9 jours, les colonies ont été retournées au laboratoire et nourries ad libitum. Les effectifs des colonies traitées ont augmenté plus lentement, mais la différence était non significative. Gill et al. (2012) ont fourni à des colonies de *B. terrestris* des mangeoires contenant 10 ppb d'imidaclopride dans de l'eau sucrée tout en permettant simultanément aux abeilles de butiner à l'extérieur du nid. Les abeilles exposées à l'imidaclopride ont rapporté du pollen moins souvent et ont eu tendance à rapporter des quantités plus petites par rapport aux abeilles de contrôle. Feltham et al. (2014) ont simulé une exposition de colonies avec une reine de *B. terrestris* à une culture de colza en fleurs, en leur fournissant de l'eau sucrée et du pollen contenant 0,7 ppb et 6 ppb d'imidaclopride, respectivement, pendant 2 semaines. Ils ont constaté une réduction de 57% de la masse de pollen ramené aux colonies, laquelle réduction a persisté pendant au moins 4 semaines après l'arrêt du traitement. Une seule étude à ce jour a tenté d'examiner les effets de l'exposition aux néonicotinoïdes sur le développement du niveau de la colonie de bourdons en conditions de terrain ; Whitehorn et al. (2012) ont utilisé les mêmes doses réalistes de terrain que Feltham et al. (2014) et puis ont laissé les colonies se développer à l'état naturel dans leur milieu. Ils ont enregistré une croissance réduite du nid significative et une diminution de 85% de la production de reines dans les colonies exposées à l'imidaclopride par rapport aux colonies de contrôle. Cette diminution des performances de la colonie est probablement due à une combinaison de facteurs tels qu'un apport réduit en pollen (comme l'ont démontré Gill et al. 2012 et Feltham et al. 2014) et peut-être une altération de la fécondité des reines (suivant Laycock et al. 2012a, b). Dans une étude de 11 semaines en serre, les colonies avec reine en cage de *B. impatiens* ont reçu des traitements de 0, 10, 20, 50 et 100 ppb d'imidaclopride, respectivement, et de la clothianidine dans un sirop de sucre (50%) (Scholer et Krischik 2014). A 6 semaines, la mortalité des reines était significativement plus élevée dans la gamme des 50 et 100 ppb et, à 11 semaines, dans les colonies exposées à 20-100 ppb d'imidaclopride. À partir de 20 ppb, il apparaît une réduction statistiquement significative de la survie des reines (37% pour l'imidaclopride, 56% pour la

clothianidine), du déplacement des ouvrières, de la consommation de la colonie et du poids de la colonie, le tout par comparaison avec les colonies de contrôle à 0 ppb. A 10 ppb d'imidaclopride et 50 ppb de clothianidine, moins de mâles sont produits (Scholer et Krischik 2014).

Bryden et al. (2013) ont conçu un modèle pour simuler le développement de la colonie de bourdons pour évaluer les impacts au niveau de la colonie d'effets sublétaux bien connus sur les individus. Leur étude montre que les colonies de bourdons échouent lorsqu'elles sont exposées à des niveaux sublétaux soutenus de pesticides. Ceci est expliqué par une altération du fonctionnement de la colonie. Les colonies d'abeilles sociales ont une dépendance-densité positive, par là elles sont soumises à l'effet Allee. Il y a un niveau critique de stress pour le succès d'une colonie de sorte qu'une légère augmentation du niveau de stress peut faire la différence entre l'échec et le succès.

Il semble probable que les abeilles intoxiquées sont pleinement en mesure de recueillir de la nourriture quand elle leur est présentée dans le nid, mais quand les abeilles ont à naviguer sur des distances réalistes pour extraire le nectar et le pollen des fleurs dans des conditions complexes, d'inégales répartitions des fleurs, les effets de l'intoxication deviennent évidents. Des études ont porté principalement sur les effets comportementaux chez les abeilles adultes peu après l'exposition aux néonicotinoïdes, mais il existe des preuves tant chez les abeilles domestiques (Yang et al. 2012) que chez les abeilles sans dard (Tomé et al. 2012) que l'exposition pendant les stades larvaires peut nuire au développement du système nerveux central et, par conséquent, peut entraîner une réduction des performances des adultes plusieurs semaines après l'exposition de la colonie. Par conséquent, les conséquences pour l'évaluation des risques sont claires : les essais en laboratoire, et même les essais où les colonies sont placées immédiatement à côté des cultures traitées, ne sont pas appropriés pour détecter ces impacts. De même, les expériences doivent fonctionner pendant plusieurs semaines pour examiner les effets à long terme de l'exposition sur la santé des abeilles.

Les données toxicologiques disponibles indiquent que les impacts sur les taxons d'abeilles diverses sont largement similaires au niveau des impacts sur un individu abeille, avec certains éléments de preuve tels que les bourdons et les abeilles solitaires peuvent être plus sensibles que les abeilles domestiques. Il est clair que des doses d'imidaclopride dans les conditions réalistes de terrain peuvent avoir une gamme d'effets néfastes significatifs sur le développement des larves, sur la fécondité des adultes, le comportement de recherche de nourriture et (donc) sur la performance de la colonie chez ces espèces sociales. Cependant, les effets des néonicotinoïdes sur une grande majorité d'espèces d'abeilles n'ont pas été examinés, et la prudence est nécessaire lors de l'extrapolation des espèces sociales aux espèces solitaires. Aucune étude n'a évalué les impacts des néonicotinoïdes sur les espèces solitaires dans des conditions de terrain. On pourrait vraisemblablement faire valoir que la grande taille de la colonie affichée par les abeilles domestiques et des abeilles sans dard pourrait avoir un effet tampon chez ces espèces contre des réductions de performance dans la recherche de

nourriture, de même concernant les erreurs de navigation de la part des butineuses ; cependant, ceci n'est probablement pas le cas ni pour les colonies de bourdons, qui ont seulement quelques centaines d'ouvrières au plus, ni pour les abeilles solitaires, où une seule femelle est responsable de l'approvisionnement pour la progéniture. Ainsi, les impacts au niveau de la population peuvent être inversement proportionnels au niveau de la socialité. Cette possibilité est en attente d'études expérimentales.

#### *Les papillons diurnes et nocturnes (lépidoptères)*

Parmi les pratiques agricoles, l'utilisation des pesticides est connue pour impacter les papillons ; cependant, sur la base de données d'observations de terrain, il est difficile de distinguer les effets des pesticides d'autres pratiques agricoles, telles que l'application d'engrais ou la simplification du paysage, la suppression de haies, par exemple (Geiger et al. 2010). Dans le cas des papillons diurnes ou nocturnes qui habitent des structures adjacentes aux zones où les pesticides sont appliqués en pulvérisation aérienne, par effets indirects la dérive de pulvérisation peut présenter des risques à la fois pendant et après les applications (Sinha et al. 1990). Dans les années 1980, par exemple, l'application par hélicoptère de pesticides dans les vignobles de la vallée de la Moselle en Allemagne a conduit, une population isolée du papillon Apollon (*Parnassius apollo*), qui était limitée à des pentes rocheuses adjacentes, au bord de l'extinction (Kinkler et al. 1987 ; Richarz et al. 1989 ; Schmidt, 1997). En Italie du Nord, les communautés de papillons dans les prairies naturelles ont subi des déclinés drastiques en aval des vergers intensivement pulvérisés, conduisant à la disparition de toutes les espèces, la plupart généralistes (Tarmann 2009). En outre, pulvériser des pesticides peut altérer la qualité des sols (Freemark et Boutin, 1995) et ainsi affecter indirectement les larves et les pupes des espèces de papillons vivant dans les couches supérieures de la surface du sol au printemps.

Contrairement à d'autres espèces non cibles (par exemple les abeilles, les oiseaux, les araignées, les carabes), très peu de tests comparatifs de sensibilité aux pesticides ont été conduits sur les papillons. Cela est surprenant compte tenu du rôle important que ces insectes jouent dans les programmes de conservation. Une telle étude conduite par Brittain et al. (2010b) a évalué l'impact des pesticides sur divers groupes de pollinisateurs. Lorsque l'on compare les systèmes conduits de manière intensive (taux d'application élevés de pesticides) aux systèmes conduits de façon moins intensive (moins d'applications de pesticides), les auteurs ont démontré que moins d'espèces de bourdons et de papillons ont été observés dans les parcelles cultivées de manière intensive. L'étude a également démontré que les abeilles sauvages subissent des risques plus élevés liés aux pesticides que les papillons (Brittain et al. 2010b).

De plus, les études de Feber et al. (1997) et Rundlöf et al. (2008) ont démontré des impacts négatifs des pesticides sur les papillons. Les impacts sur les populations de papillons ont été évalués parallèlement en agriculture biologique et en agriculture conventionnelle. Dans chaque cas, il a été montré que les fermes en agriculture biologique hébergent un plus

grand nombre d'individus et d'espèces de papillons. Cette réponse est probablement due en partie aux applications réduites (?) d'herbicides dans les systèmes en agriculture biologique, en effet, les herbicides réduisent l'abondance des plantes hôtes et nectarifères qui sont cruciales autant pour la survie des larves que celle des adultes (Boggs, 2003). En revanche, des études similaires comparant les communautés de lépidoptères entre les systèmes agricoles biologiques et conventionnels n'ont trouvé aucune différence dans le nombre ou la richesse en espèces de papillons (Weibull et al. 2000 et Brittain et al. 2010a). Dans le cas de ces études, les caractéristiques du paysage environnant tels que l'absence de végétation spécifique (par exemple de haies ou de ressources en nectar) à la fois aux niveaux local et régional, ou l'application de pesticides à grande échelle, peuvent avoir influé sur l'issue des résultats.

Par contraste, le faible nombre d'études écologiques et écotoxicologiques sur les effets directs et indirects des pesticides sur les espèces non-cibles de lépidoptères, de nombreux résultats sont disponibles sur les effets des pesticides sur les espèces de papillons qui sont considérés comme des ravageurs agricoles durant le stade larvaire (Haynes, 1988 ; Davis et al, 1991a, b, 1993 ; Liang et al. 2003). Les effets des pesticides systémiques sur les lépidoptères ont été étudiés pour quelque 32 espèces de papillons ravageurs dans neuf familles différentes (tableau 2). Cela représente une infime partie des 200 000 espèces de lépidoptères estimés. Les résultats montrent une variation considérable dans l'impact des pesticides sur les différentes espèces de lépidoptères. Par exemple, Doffou et al. (2011a, b) ont noté que la sensibilité de deux ravageurs du cotonnier, le ver rose du cotonnier (*Pectinophora gossypiella*) (Gelechiidae) et le faux carpocapse de la pomme (*Cryptophlebia leucotreta* un Tortricidae), à l'acétamipride diffère presque de 3 fois ( $LD_{50} = 11\ 049$  et  $3798$  ppm, respectivement). Le premier stade de la chenille du carpocapse des pommes et des poires (*Cydia pomonella* un Tortricidae) est plus de 100 fois plus sensible que les chenilles au cinquième stade final, avec une  $CL_{50}/CL_{90}$  de  $0,84 / 1,83$  et  $114,78 / 462,11$  ppm, respectivement (Stara et Kocourek 2007a, b).

Sans surprise, la toxicité des différents composés néonicotinoïdes varie. Le thiaclopride et l'acétamipride par exemple, sont reconnus pour avoir des effets plus puissants sur la survie de la mineuse de la pomme (*Phyllonorycter ringoniella*) que toutes les autres substances du groupe des néonicotinoïdes (Funayama et Ohsumi 2007a, b). Il a été montré que l'acétamipride est plus toxique que le thiaclopride dans plusieurs études, mais à des degrés de différence très variables. Par exemple, dans une étude, Cichon et al. (2013) ont montré que le thiaclopride est deux fois plus toxique pour *C. pomonella* que l'acétamipride ( $LC_{99} / LC_{50} = 1,55 / 0,17$  vs  $0,71 / 0,08$  ppm, respectivement), tandis que Magalhaes et Walgenbach (2011) ont enregistré une différence de 60 fois dans la sensibilité de la même espèce à ces composés ( $CL_{50} = 1,06$  et  $65,63$  ppm, respectivement).

De nombreuses études ont documenté la résistance aux pesticides systémiques chez les Lépidoptères ; par exemple, il a été montré pour la teigne de la pomme de terre, *Phtorimaea*

*operculella*, une résistance au fipronil (Doğramacı et Tingey 2007), pour une noctuelle (*Spodoptera litura*), une résistance à la fois au fipronil et à l'imidaclopride (Huang et al, 2006a, b ; Ahmad et al. 2008 ; Abbas et al. 2012), pour *C. pomonella* une résistance à l'acétamipride et au thiaclopride (Cichon et al. 2013 ; Chevalier 2010 ; Stara et Kocourek 2007a, b), et pour la teigne du chou, (*Plutella xylostella*), une résistance à l'acétamipride (Ninsin et al. 2000a, b). Dans cette dernière étude sur le terrain au Japon, un dosage près de 10 fois plus élevé était nécessaire pour atteindre la même concentration létale ( $LC_{50/95} = 315/2020$  par rapport à  $35,1$  ppm /  $137$  ppm dans les colonies sensibles de laboratoire). Les applications de ces concentrations élevées pourraient augmenter encore les impacts négatifs sur les espèces non-cibles d'insectes. Même des doses sublétales faibles peuvent avoir de graves conséquences sur les populations de lépidoptères. Dans une étude sur la noctuelle de la tomate (*Helicoverpa armigera*) par Ahmad et al. (2013), un seizième de la  $CL_{50}$  d'imidaclopride ( $5,38$  ppm) a augmenté le taux de survie de la prochaine génération d'un facteur 4 (i.e. l'équivalent de la  $CL_{10}$ ) par rapport à un traitement avec la dose de  $CL_{50}$ . Les effets sublétaux incluent une réduction significative de la survie et de la fécondité, une mortalité accrue dans les premières et les générations suivantes. Asaro et Creighton (2011a, b) ont noté que les pins à encens semblaient être à l'abri du papillon *Nantucket pointe de pin* (*Rhyacionia frustrana*) même un an après le traitement, et l'effet du traitement n'est apparemment pas confiné aux espèces cibles, mais étendu à d'autres espèces d'insectes non cibles.

Des études sur l'impact des pesticides sur les papillons, et en particulier les espèces qui ne sont pas nuisibles pour l'agriculture, mais qui habitent généralement les paysages aménagés sont d'une nécessité évidente. Des études approfondies sur les effets directs et indirects des pesticides sur ces groupes non cibles sont d'une urgente nécessité à différentes échelles géographiques et sur de longues périodes (Aebischer 1990) et elles doivent intégrer tous les stades de développement des papillons (i.e. œuf, larve, nymphe, adulte). Ceci est d'une importance primordiale pour inclure différentes intensités d'applications de pesticides, leur persistance et leur interaction avec les facteurs biotiques et abiotiques (Longley et Sotherton 1997 ; Brittain et al. 2010b).

#### *Autres invertébrés*

Cette section examinera les études sur les néonicotinoïdes et les organismes non-cibles, en particulier les invertébrés prédateurs d'espèces naturelles des ravageurs. La lutte biologique joue un rôle important dans la gestion intégrée des ravageurs (Byrne et Toscano 2007 ; Peck et Olmstead 2010 ; Prabhaker et al. 2011 ; Khani et al 2012). Les études suggèrent que les prédateurs peuvent contribuer à obtenir des rendements similaires entre des cultures non traitées et des champs traités aux pesticides (Albajes et al. 2003 ; Seagraves et Lundgren 2012).

#### *Voies d'exposition*

Les organismes non cibles peuvent être exposés à des pesticides néonicotinoïdes par une variété de voies. Les invertébrés prédateurs peuvent être contaminés en consommant des ravageurs comme les cicadelles ou les pucerons qui se nourrissent sur les cultures traitées (Albajes et al. 2003 ; Papachristos et Milonas 2008 ; Moser et Obrycki 2009 ; Prabhaker et al. 2011 ; Khani et al. 2012). La contamination directe par l'alimentation peut être aussi un problème pour les autres invertébrés bénéfiques consommateurs de végétaux (Dilling et al 2009 ; Girolami et al. 2009 ; Moser et Obrycki 2009 ; Prabhaker et al. 2011 ; Khani et al. 2012). Par exemple, plusieurs espèces de syrphes et les guêpes parasitoïdes attaquent les parasites agricoles mais utilisent également dans leur régime du nectar. Par conséquent, ces insectes peuvent être affectés par les néonicotinoïdes qui sont transloqués dans le nectar et le pollen des plantes cultivées traitées (Stapel et al. 2000 ; Krischik et al. 2007).

D'autres voies d'exposition comprennent le contact avec les surfaces traitées, l'exposition aux pulvérisations ou par la consommation de gouttelettes de guttation (Papachristos et Milonas 2008 ; Prabhaker et al. 2011 ; Khani et al. 2012). Il a été montré par exemple que l'injection dans le sol de néonicotinoïdes nuit au développement des larves de lépidoptères lors de la nymphose dans le sol (Dilling et al. 2009), tandis qu'il a été aussi montré que le trempage du sol diminue considérablement l'abondance globale des espèces d'insectes et la richesse en espèces. Dans une étude, l'imidaclopride a été utilisé sur la pruche du Canada (*Tsuga canadensis*) pour contrôler efficacement le puceron de la pruche (*Adelges tsugae*) ; toutefois il fut démontré que l'abondance des détritivores, des invertébrés fongivores et des phytophages non-cibles était significativement plus faible dans les sols traités par trempage et injection que dans les parcelles non traitées (Dilling et al. 2009).

Les guêpes parasitoïdes telles que la mouche pisseuse (*Gonatocerus ashmeadi*) peuvent entrer en contact avec les néonicotinoïdes lorsqu'elles émergent des œufs dans leur hôte. Un tel hôte, le tireur d'élite vitreux ailé (*Homalodisca itripennis*), un ravageur agricole commun à de nombreuses cultures différentes, pond ses œufs sur la face inférieure des feuilles, en dessous de la couche épidermique. Si les œufs sont pondus sur les plantes traitées aux néonicotinoïdes, les nymphes de *G. ashmeadi* peuvent être exposées à des toxines quand elles sortent de l'œuf en mâchant la feuille pour remonter à la surface (Byrne et Toscano 2007).

Une étude de 3 ans par Peck (2009) a révélé que l'imidaclopride a été utilisé comme traitement de pelouse pour cibler les vers blancs nouveau-nés (Coléoptères : Scarabéidés), ce traitement a eu des conséquences néfastes cumulatives sur l'abondance des Hexapodes, des Collembolés, des Thysanoptères et des Coléoptères adultes, avec, dans l'ensemble, des pertes à hauteur de 54-62% au cours de l'étude. Nombres de populations d'organismes non-cibles peuvent aussi être indirectement affectés par une réduction des proies ou des espèces hôtes (Byrne et Toscano 2007 ; Dilling et al. 2009).

## Diptères

Au sein de la famille des diptères le genre *Drosophila* fournit des espèces modèles pratiques bien connues pour les tests de toxicité. Les mécanismes de résistance à l'imidaclopride et le métabolisme ont été étudiés chez la mouche du vinaigre (*Drosophila melanogaster*). En particulier, les gènes de la famille d'enzymes détoxifiantes cytochromes mono-oxygénases P450 (CYPs) sont impliqués comme dans le cas des moustiques (Riaz et al. 2013). Selon Kalajdzic et al. (2012), trois gènes P450 (Cyp4p2, Cyp6a2 et Cyp6g1) situés sur le chromosome 2R ont été fortement régulés à la hausse chez les mouches résistantes à l'imidaclopride. Cependant, les mêmes auteurs n'ont pas trouvé que l'imidaclopride induisait l'expression des gènes Cyp6g1 et Cyp6a2 (Kalajdzic et al. 2013). Plus récemment, il a été montré que l'imidaclopride est métabolisé en huit métabolites chez *D. melanogaster*. Dans ce processus, seul le gène Cyp6g1 du cytochrome P450 a été impliqué dans le métabolisme accru in vivo (Hoi et al. 2014). La toxicité directe (CL<sub>50</sub>) a été déterminée pour différentes souches de *D. melanogaster*. Par exemple, la toxicité de plusieurs néonicotinoïdes et celle du butène-fipronil ont été évaluées (Arain et al. 2014), les néonicotinoïdes étant moins toxiques que le butène fipronil. Il a été suggéré que des différences existent entre les adultes et les larves. Les CL<sub>50</sub> aiguës peuvent être comparées à la CL<sub>50</sub> mesurée après une exposition chronique dans les deux études. Avec une souche mutante, Frantzios et al. (2008) ont constaté une diminution d'un facteur 2 pour les mouches adultes (aiguë vs chronique) et un facteur 3 pour les larves. Très récemment, Charpentier et ses collègues ont établi une distinction entre les mouches mâles et femelles à partir d'une souche de terrain (Charpentier et al. 2014). Ici, la CL<sub>50</sub> chronique était de 29 fois inférieure à la CL<sub>50</sub> aiguë pour les mâles ; elle était de 172 fois plus faible pour les femelles et 52 fois plus faible pour les larves. En outre, cette étude a démontré qu'une augmentation significative de la mortalité (27-28%), la courbe ayant une forme en V, se produisait à des concentrations de 1100 et 4600 fois plus faibles que la CL<sub>50</sub> chronique pour les mâles et les femelles, respectivement. D'autres paramètres qui sont essentiels pour la reproduction ont été testés (l'accouplement et la fécondité). Des LOEC ont été déterminées à des concentrations qui sont de 3 300 000 à plus de 7 900 000 fois plus faibles que la CL<sub>50</sub> aiguë pour les femelles et les mâles, respectivement. Ces données peuvent être reliées aux données relatives à la mortalité observée dans le cas d'une exposition chronique des abeilles à des concentrations très faibles.

## Hyménoptères (abeilles exclus)

Quelques études ont examiné l'effet des pesticides néonicotinoïdes sur les guêpes parasites utilisées comme agents de lutte biologique. Stapel et al. (2000) ont constaté que les guêpes parasitoïdes (*Microplitis croceipes*) exposées voyaient leur capacité de recherche de nourriture et leur longévité considérablement réduites après la consommation de nectar extrafloral de coton (*Gossypium hirsutum*) traité à l'imidaclopride. Prabhaker et al. (2007) donnent une toxicité aiguë pour deux moments différents d'exposition pour les

espèces de guêpe parasite les cultures protégées, *Encarsia formosa*, *Aphytis melinus* et *G. ashmeadi* (tableau 3).

Dans une autre étude, *Anagyrus pseudococci* (une guêpe dépendante du nectar) a été alimentée à l'aide de fleurs de sarrasin (*Fagopyrum esculentum*) qui avaient été exposées à l'imidaclopride par traitement du sol, appliqué au taux de l'étiquette. Seulement 38% des guêpes survécurent au delà du premier jour, comparativement aux 98% de survivantes nourries sur les fleurs non traitées. Le taux de survie après 7 jours était de 0% pour les fleurs traitées, alors qu'il était de 57% pour les fleurs non traitées (Krischik et al. 2007).

Comme indiqué dans la section sur les voies d'exposition, l'exposition à l'imidaclopride n'a pas d'incidence sur la mortalité de *G. ashmeadi* (une guêpe parasitoïde) au cours du développement au sein de son hôte, mais les adultes furent sensibles pendant l'émergence dans l'hôte. Lorsque la mortalité a été évaluée dans les 48h après d'émergence, la CL<sub>50</sub> pour le parasitoïde était de 66 ng d'imidaclopride par cm<sup>2</sup> de feuille (Byrne et Toscano 2007).

Les néonicotinoïdes hautement concentrés (biocides) sont couramment utilisés dans des produits ménagers comme appâts pour lutter contre les fourmis (Rust et al 2004 ; Jeschke et al. 2010) ; cependant, l'utilisation de produits agrochimiques à des doses moins concentrées est un problème pour les fourmis non-cibles. Pour la fourmi découpeuse (*Acromyrmex subterraneus subterraneus*), Galvanho et al. (2013) ont constaté que les doses sublétales d'imidaclopride réduisent le comportement de toilettage. Le comportement de toilettage chez cette fourmi est un moyen de défense contre les champignons pathogènes comme les espèces du genre *Beauveria*. Barbieri et al. (2013) ont récemment découvert que les interactions entre les différentes espèces de fourmis peuvent être affectées par des doses sublétales de néonicotinoïdes. Dans les interactions interspécifiques, les individus d'une espèce de fourmi indigène (*Monomorium antarcticum*) ont réduit leur agressivité envers une espèce de fourmi (*Linepithema humile*) invasive bien que la survie n'ait pas été affectée. Les individus exposés de *L. humile* ont manifesté une augmentation de l'agressivité ayant pour conséquence une probabilité de survie réduite (?).

### Hémiptères

Alors que beaucoup d'hémiptères sont des parasites agricoles problématiques, un certain nombre d'espèces sont d'importants prédateurs de ces ravageurs même s'ils se nourrissent aussi de certains tissus des plantes lesquels pourraient aussi être contaminés par des néonicotinoïdes (Prabhaker et al. 2011). Le tableau 4 montre les taux de CL<sub>50</sub> pour les différentes espèces d'hémiptères.

### Neuroptères

L'utilisation agricole des néonicotinoïdes n'est pas la seule qui affecte les invertébrés bénéfiques. Une étude a montré que le Marathon 1% G, un produit contenant de l'imidaclopride à usage des amateurs sur les fleurs, affecte les chrysopes (*Chrysopa spp.*) lorsqu'il est utilisé à la dose prescrite. L'étude

a montré que le taux de survie sur les fleurs non traitées est pour les adultes de 79%, alors qu'il est sur les fleurs traitées sur une période de 10 jours de 14% (Rogers et al. 2007).

### Coléoptères

Un certain nombre d'études ont examiné les effets de néonicotinoïdes sur divers taxons de coléoptères comme les Histeridae (Les coléoptères Hister), les Carabidae (Les carabes) (Kunkel et al. 2001 ; Mullin et al. 2010) (Kunkel et al.1999) et les Coccinellidés (Les coccinelles) (Smith et Krischick 1999 ; Youn et al. 2003 ; Lucas et al. 2004 ; Papachristos et Milonas 2008 ; Moser et Obrycki 2009 ; Eisenback et al. 2010 ; Khani et al. 2012).

Certains coléoptères, notamment des familles de carabes et de staphylins, sont des prédateurs voraces et constituent un aspect essentiel de la gestion intégrée des ravageurs. Par exemple, pour les coléoptères, bien que la présence de talus comme habitats de nidification soustrait des terres à la production agricole, dans les champs de blé (*Triticum aestivum*) il a pu être montré que ces pertes sont plus que compensées par les économies réalisées grâce à la réduction des besoins en pesticides pour le contrôle des pucerons (Landis et al. 2000).

Beaucoup de ces groupes de coléoptères subissent un déclin rapide. Au Royaume-Uni, les trois quarts des espèces de carabes voient leurs populations se réduire, la moitié a ainsi subi des déclins de plus de 30% bien que la raison de ces baisses considérables soit inconnue (Brooks et al. 2012). Ces groupes sont particulièrement utiles en tant que bio-indicateurs en raison de leur sensibilité aux changements d'habitat en particulier dans les milieux agricoles (Kromp 1999 ; Lee et al. 2001). Dans le projet de rapport d'évaluation de l'UE pour l'imidaclopride, les tests de toxicité aiguë entrepris sur le carabe coléoptère (*Poecilus cupreus*) ont montré que les larves étaient très sensibles. Malgré l'estimation du rapporteur de l'État membre jugeant que les concentrations testées étaient trop élevées pour lui permettre de conclure une absence de risque pour les carabes dans le cas de l'utilisation de l'imidaclopride sur la betterave à sucre, il n'y eut aucune décision pour poursuivre les recherches nécessaires (EFSA, 2006).

Lorsqu'il est exposé à l'imidaclopride, via des parcelles de gazon traitées, le carabe *Harpalos pennsylvanicus* manifeste une série de problèmes neurotoxiques dont la paralysie, des troubles de la marche et un toilettage excessif. Ces comportements anormaux rendent ensuite les individus vulnérables à la prédation par les fourmis (Kunkel et al. 2001). Dans une étude menée par Mullin et al. (2010), ces chercheurs ont exposé 18 espèces différentes de carabes à des semis de maïs traités soit à l'imidaclopride, soit au thiaméthoxame, soit à la clothianidine à des doses réalistes de terrain. Près de 100% de mortalité a été observée pour toutes les espèces au delà de 4 jours.

Les coccinelles sont des prédateurs bien connus pour leur capacité à lutter contre les ravageurs communs, à la fois dans des environnements soit agricoles soit domestiques. Dans les sols traités à l'imidaclopride, chez les espèces s'alimentant de pollen telle que *Coleomegilla maculata* (Smith et Krischick

1999) une mobilité réduite et un retard dans la reproduction ont été observés, tandis que la production d'œufs et la période de ponte chez la cochenille destroyer (*Cryptolaemus montrouzieri*) (Khani et al. 2012) et chez l'*Hippodamie undecimnotata* (Papachristos et Milonas 2008) ont été réduites de manière significative. Le tableau 5 montre les valeurs des toxicités aiguës disponibles pour certaines espèces de coccinelles.

Les larves de la coccinelle arlequin (*Harmonia axyridis*) ont été exposées à des plants de maïs cultivés issus de semences traitées aux doses recommandées sur l'étiquette soit de thiaméthoxame soit de clothianidine. 72% des larves présentaient des symptômes neurotoxiques tels que des tremblements, une paralysie et la perte de coordination, alors que seulement 7% des larves ont récupéré de l'empoisonnement (Moser et Obrycki 2009).

### *Arachnides*

En plus de la protection des cultures, les applications d'insecticides néonicotinoïdes en médecine vétérinaire ont augmenté. L'imidaclopride est appliqué aux animaux domestiques par exemple en formulation locale contre la gale des oreilles (*Otodectes cynotis*) (Jeschke et al. 2010). Cependant, les études sur les acariens ont montré un effet positif sur leur population. Zeng et Wang (2010) ont constaté que des doses sublétales d'imidaclopride (déterminées pour le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*)) ont augmenté de façon significative le taux d'éclosion et de survie des pré-adultes de l'acarien carmine tétranyque (*Tetranychus cinnabarinus*). James et Price (2002) ont également constaté que l'imidaclopride accroît la production d'œufs de 23-26% chez le tétranyque à deux points (*Tetranychus urticae*) au laboratoire. Une autre étude a montré que la fécondité de cette espèce a été légèrement plus élevée lorsqu'elle a été traitée au thiaméthoxame (Smith et al. 2013).

Szczepaniec et al. (2013) ont découvert que l'application des néonicotinoïdes supprime l'expression de gènes de défense des plantes lorsqu'ils sont appliqués sur le coton et les plants de tomates. Ces gènes modifient les niveaux de phytohormones et diminuent la résistance de la plante au tétranyque à deux points (*T. urticae*). Lorsque les acariens ont été ajoutés aux cultures, la croissance démographique est passée de 30 à plus de 100% sur les plantes traitées aux néonicotinoïdes en serre et jusqu'à 200% dans l'expérience sur le terrain. Cette étude a été motivée après que le même auteur eut enquêté sur une épidémie de *T. urticae* à New York City, USA. Dans la tentative d'éradiquer la pyrale dendroctone du frêne (*Agrillus planipennis*) de Central Park, l'imidaclopride a été appliquée aux arbres par arrosage du sol et injection dans les troncs. Cela a entraîné une épidémie de *T. urticae* sur les ormes car les prédateurs naturels furent empoisonnés par l'ingestion de proies exposées à l'imidaclopride, ceci combinée à l'accroissement de la fécondité des acariens eux-mêmes (Szczepaniec et al. 2011).

Une autre étude a révélé que les traitements au thiaméthoxame et à l'imidaclopride ont augmenté de manière significative la densité du tétranyque deux points (*T. urticae*) sur les plants de coton par rapport aux témoins non traités

(Smith et al. 2013). Cette étude suggère que l'utilisation accrue des néonicotinoïdes pourrait expliquer les récentes hausses d'infestation du tétranyque à deux points se produisant dans diverses cultures à travers le centre-sud des États-Unis.

### *Les vers de terre (Lombricidae)*

Les vers de terre sont des acteurs extrêmement importants de la faune du sol, en particulier dans les sols agricoles où ils peuvent constituer jusqu'à 80% de la biomasse totale des animaux des terres émergées (NDT) (Luo et al. 1999). Ils jouent un rôle crucial dans le développement et la maintenance des propriétés physique, chimique et biologique des sols (Lee, 1985). Leurs activités améliorent la structure du sol en augmentant la porosité et l'aération, ce qui facilite la formation d'agrégats et réduit le compactage (Edwards et Bohlen, 1996 ; Mostert et al. 2000). La fertilité du sol est améliorée par les effets des vers de terre sur les cycles biogéochimiques (Coleman et Ingham, 1988 ; Bartlett et al. 2010), la modification de la biomasse et de l'activité microbiennes (Sheehan et al. 2008), la décomposition de la litière végétale (Knollengberg et al. 1985) et le mélange litière avec de la terre (Wang et al. 2012a).

Les néonicotinoïdes et d'autres insecticides systémiques peuvent créer un risque pour la survie et le comportement des vers de terre, et donc potentiellement perturber les processus de développement des sols et de leur maintenance. Les mêmes voies nerveuses qui permettent aux néonicotinoïdes d'agir contre les ravageurs des invertébrés (Elbert et al. 1991) sont présentes chez les vers de terre (Volkov et al. 2007). Ainsi, lorsque les néonicotinoïdes sont appliqués pour la protection des cultures agricoles et horticoles, les vers de terre peuvent être exposés par contact direct avec les granulés ou les semences traitées, ou par le sol et l'eau contaminés. En outre, en s'alimentant ils peuvent ingérer des particules de sol ou de matière organique contaminées (e.g. Wang et al. 2012b). Les résidus foliaires de la litière végétale après l'absorption systémique dans les sols ou après injections directes dans les plantes posent également un risque pour les vers de terre consommateurs de litière si la litière végétale est contaminée (e.g. Kreuzweiser et al. 2009).

Les néonicotinoïdes peuvent persister dans le sol et se déplacer ce qui augmente la probabilité que les vers de terre soient exposés durant de longues périodes. Les essais en laboratoire et sur le terrain avec les néonicotinoïdes ont démontré que leur demi-vie dans les sols varie en fonction des conditions du sol et peuvent varier de quelques semaines à plusieurs années (Cox et al. 1997 ; Sarkar et al. 2001 ; Cox et al. 2004 ; Bonmatin et al. 2005 ; Fossen 2006 ; Gupta et Gajbhiye 2007 ; Goulson 2003). L'imidaclopride est le néonicotinoïde le plus largement utilisé, et son adsorption dans les sols est augmentée par l'humidité et la teneur en matière organique (Broznic et al. 2012), ce qui entraîne une augmentation des concentrations d'imidaclopride dans les sols riches en matière organique par rapport aux sols largement dépourvus (Knoepp et al. 2012). Les vers de terre préfèrent généralement l'humidité, les sols riches en matière organique. Lorsque le contenu en carbone organique du sol est faible, la forte solubilité de l'imidaclopride le rend mobile et il est

facilement déplacé à travers les sols (Broznic et al 2012 ; Knoepp et al. 2012 ; Kurwadkar et al. 2013.), augmentant ainsi la probabilité que les vers de terre puissent être exposés aux pesticides dans le sol en dehors de la zone d'application directe.

#### *Effets sur la survie*

Les néonicotinoïdes peuvent être très toxiques pour les vers de terre. Cependant, les médianes des concentrations létales rapportées ( $CL_{50}$ ) sont variables en fonction de l'insecticide particulier, les conditions d'essai, la voie d'exposition et la durée (tableau 6). Dans 13 études distinctes, les  $CL_{50}$  rapportées variaient de 1,5 à 25,5 ppm, avec une moyenne de 5,8 et la médiane de 3,7 ppm. Dans sept études qui ont constaté des concentrations plus faibles pour lesquelles des effets sur la survie étaient mesurables, la concentration efficace la plus faible se situait entre 0,7 et 25 ppm, avec une moyenne de 4,7 et la médiane à 1,0 ppm. Le ver du fumier (*Eisenia foetida*) est l'espèce la plus communément testée dans les études de survie et représente une gamme de concentrations létales rapportée donnant peu d'indications parmi ces études sur d'autres espèces plus sensibles que *E. foetida*.

Par rapport à d'autres insecticides communs, les néonicotinoïdes ont tendance à se situer parmi les plus toxiques pour les vers de terre. Wang et al. (2012a) ont testé la toxicité aiguë de 24 insecticides sur *E. foetida* et ont constaté que les néonicotinoïdes sont, dans des bio-essais du sol, plus toxiques, c'est tout particulièrement le cas de l'acétamipride et de l'imidaclopride. Ils ont également démontré à partir d'un bio-essai de toxicité par contact que les néonicotinoïdes étaient extrêmement toxiques par cette voie d'exposition ( $CL_{50}$  de 0,0088 à 0,45  $\mu\text{g cm}^{-2}$ ), bien que les unités exprimées en concentration de toxicité par contact soient difficiles à comparer à la concentration létale standard. Au travers d'un éventail plus large de 45 pesticides, Wang et al. (2012b) ont constaté que dans les bio-essais du sol, la clothianidine était le plus toxique des insecticides néonicotinoïdes pour *E. foetida*. Alves et al. (2013) ont comparé trois insecticides utilisés en traitement de semences et indiqué que l'imidaclopride était le plus toxique pour les vers de terre. Dans des bio-essais du sol comparant cinq différents insecticides, Mostert et al. (2002) ont constaté que l'imidaclopride arrivait en seconde position des plus toxiques (derrière le carbaryl) pour les vers de terre. Nous n'avons trouvé que deux études qui ont constaté toutes les deux que la toxicité du fipronil, un autre insecticide systémique agricole commun, était sensiblement (au moins 100 fois) moins mortelle pour les vers de terre que les néonicotinoïdes (Mostert et al. 2002 ; Alves et al. 2013).

#### *Effets sur la reproduction*

Seules quelques études ont testé les effets sublétaux des néonicotinoïdes sur la reproduction des vers de terre, mais il est évident que la réduction de la fécondité peut se produire à de faibles concentrations (tableau 6). Baylay et al. (2012) ont rapporté des  $CE_{50}$  (Concentration Efficace médiane, NDT) pour l'imidaclopride et le thiaclopride contre la production de

cocons par *Lumbricus rubellus*, de 1,5 ppm et 1,3 ppm, respectivement, tandis que Gomez-Eyles et al. (2009) ont constaté des  $CE_{50}$  similaires pour les deux mêmes insecticides à 1,4 ppm et 0,9 ppm pour *E. foetida*. Cette dernière étude a également montré des réductions mesurables de la production de cocons à 0,3 ppm de thiaclopride. Alves et al. (2013) ont rapporté une  $CE_{50}$  de l'imidaclopride, ayant des effets sur la reproduction sur *Andrei Eisenia*, de 4 ppm avec des effets mesurables négatifs à 0,7 ppm. Kreuzweiser et al. (2008b) ont évalué les effets de l'imidaclopride dans la litière forestière sur le ver de terre *Dendrobaena octaedra* habitant la litière et signalé des réductions importantes dans la production de cocons de vers de terre parmi les survivants à 7 ppm.

#### *Effets sur le comportement*

Un certain nombre d'études ont porté sur les paramètres de comportement en vertu du principe que les effets sur le comportement sont souvent en fin de compte liés à la population ou à des effets sur la communauté (Petit, 1990 ; Dittbrenner et al. 2012). Les attributs de comportement considérés ici sont les comportements d'évitement, d'enfouissement, de déjection et le changement de poids (pris comme un indicateur du comportement alimentaire). Parmi les 31 valeurs rapportées pour les effets comportementaux, le changement de poids fut la plus fréquente, suivie par l'enfouissement, le comportement d'évitement et les déjections (tableau 6). Seules quelques études ont donné des médianes de concentrations efficaces ( $CE_{50}$ ), qui allaient de 0,1 ppm (évitement) à 19 ppm (changement de poids), avec une moyenne pour la  $CE_{50}$  de 3,7 ppm et la médiane à 1,3 ppm. Ces  $CE_{50}$  pour ces comportements étaient d'environ 1,5 à 2,8 fois inférieures à la moyenne et aux médianes de concentrations létales de 5,8 et 3,7 ppm.

Cependant, beaucoup d'autres études ont rapporté des concentrations plus faibles pour lesquelles des effets comportementaux ont été détectés, et celles-ci variaient de 0,01 à 14 ppm avec une moyenne de 1,2 et la médiane à 0,5 ppm. Ainsi, les effets comportementaux mesurables constituèrent des mesures plus sensibles que les effets mesurables de survie. Les effets comportementaux mesurables se sont produits à des concentrations de l'ordre de deux à quatre fois inférieures à la moyenne des médianes des concentrations efficaces les plus basses de survie de 4,7 ppm et 1,0 ppm. L'enfouissement (dans les galeries plus petites, plus courtes et plus étroites) était le critère comportemental le plus sensible avec des effets détectés pour la concentration moyenne et la médiane de 0,3 ppm et 0,07 ppm (gamme de 0,01 à 2, n = 8). Le comportement d'évitement fut le paramètre suivant le plus sensible des effets détectés avec une concentration moyenne et une médiane de 0,5 ppm et 0,13 ppm (n = 5), suivi par les déjections (moyenne 1,1 ppm, médiane 0,7 ppm, n = 3) et le changement de poids (moyenne de 2,1 ppm, médiane 0,7 ppm, n = 13). Tous ces effets montrent que les effets négatifs mesurables sur les comportements du ver de terre pourraient être attendus à des concentrations inférieures à 1 ppm de néonicotinoïdes dans le sol.

### *Les risques pour les vers de terre*

Le risque réel d'effets nocifs sur les populations de vers de terre posé par les insecticides néonicotinoïdes dépendra de la concentration d'exposition, la durée d'exposition, la voie d'exposition, le taux d'absorption et la sensibilité intrinsèque des espèces. D'après les études de toxicité examinées ici, il semble que les individus vers de terre dans toutes les espèces communes sont exposés à un risque mortel si elles consomment du sol ou de la matière organique à une concentration en insecticide à base de néonicotinoïdes d'environ 1 ppm ou plus élevée pendant plusieurs jours. Un nombre plus élevé (jusqu'à 50%) de vers de terre exposés pourrait être exposé à ce risque mortel lorsque la concentration atteint environ 3 ppm et plus. D'une part, bien qu'il soit difficile de comparer les concentrations d'exposition à des bio-essais standards, il semble que le risque de mortalité par contact par exposition de la surface corporelle (du ver de terre) peut être dix fois plus élevé, ou plus encore que le risque de mortalité par la consommation de sols contaminés (Wang et al. 2012a). D'autre part, la voie d'exposition peut affecter la probabilité d'effets létaux sur les vers de terre. Lorsque les vers de terre furent exposés à des résidus foliaires dans la litière de feuilles, d'imidaclopride injecté dans les arbres, un effet significatif d'inhibition de l'alimentation fut décelé : la réduction de la consommation de feuille, mais elle n'a pas entraîné de mortalité des vers de terre, même à des concentrations de l'ordre de 10 ppm (Kreutzweiser et al. 2008a).

Le risque d'effets sublétaux sur certains attributs comportementaux importants est plus élevé que le risque de mortalité pour les individus. Les effets des insecticides sur les comportements d'enfouissement et d'évitement seraient attendus à des concentrations d'environ 0,1 ppm à 0,5 ppm et plus. Alors que des modifications dans le comportement fouisseur, tout spécialement la réduction de la profondeur des galeries, a des répercussions sur les propriétés de transfert dans les sols (Capowiez et al. 2006 ; Dittbrenner et al 2011b), les conséquences dans les conditions réelles ne sont cependant pas établies. Des galeries moins nombreuses, plus petites et plus courtes pourraient réduire la circulation de l'air, de l'eau et du transport de solutés affectant l'écologie globale du sol, mais aucune de ces études que nous avons trouvées n'ont effectivement testé les implications dans des contextes expérimentaux ou sur le terrain.

Les concentrations qui présentent un risque de mortalité (en supposant une forte toxicité par exposition par contact) et des effets sublétaux des vers de terre diminuent dans la gamme des concentrations de terrain rapportées, bien que à l'extrémité supérieure de cette fourchette de concentrations Dittbrenner et al. (2011b) indiquent que les concentrations environnementales prévues pour l'imidaclopride dans les sols agricoles seraient de l'ordre de 0,3 ppm à 0,7 ppm, ce qui suggère que des risques d'effets, au moins sublétaux sur les vers de terre, pourraient être très élevés. Bonmatin et al. (2005) ont rapporté que l'imidaclopride dans les sols peut atteindre plusieurs centaines de parties par milliard, peu après le semis de semences traitées. Des échantillons de sol d'une plantation de thé traitée à la clothianidine avaient des

concentrations moyennes jusqu'à 0,45 ppm peu après l'application (Chowdhury et al. 2012). Donnarumma et al. (2011) ont trouvé des concentrations d'imidaclopride dans le sol autour de 0,6 ppm à 0,8 ppm 2 semaines après l'application des semences traitées. Ramasubramanian (2013) a rapporté des concentrations de clothianidine dans les sols de 0,27 ppm à 0,44 ppm jusqu'à 3 jours après une seule application et de 0,51 ppm à 0,88 ppm jusqu'à 3 jours après une double application de granulés solubles dans l'eau. Collectivement, ces études montrent que les applications opérationnelles de néonicotinoïdes peuvent entraîner des concentrations dans le sol qui sont susceptibles de présenter un risque élevé d'effets sublétaux et un risque potentiel d'effets létaux (notamment par toxicité par contact) pour les vers de terre.

Au moins deux questions liées à l'évaluation des risques pour les vers de terre exposés aux néonicotinoïdes ne sont pas traitées de manière adéquate dans la littérature publiée. La première est la durée des périodes d'exposition dans les essais de toxicité comparée à la durée d'exposition à des concentrations persistantes dans les sols naturels. La plupart des tests de toxicité sont de courte durée, de l'ordre de quelques jours ou semaines. D'un autre côté les résidus de néonicotinoïdes peuvent persister dans les sols pendant des mois voire des années (Bonmatin et al. 2014, ce numéro). Pour la plupart des pesticides, des concentrations létales ou efficaces deviennent plus faibles au fur et à mesure que la durée des périodes d'exposition augmente, ce qui est probablement le cas pour les néonicotinoïdes (Tennekes 2010 ; Tennekes et Sánchez-Bayo 2012, 2013 ; Rondeau et al. 2014). Il est plausible que les concentrations de néonicotinoïdes de bas niveau à long terme dans les sols puissent présenter un risque plus élevé pour les vers de terre que ce qui peut être déduit des tests de toxicité publiés. La deuxième question a trait à la distribution hétérogène des résidus de néonicotinoïdes dans les sols naturels. Lorsque les résidus pénètrent dans le sol par la surface par pulvérisation, dépôt de granulés ou la litière, les concentrations dans les sols sont susceptibles d'être plus élevées sur ou près de la surface que dans les sols plus profonds. Les résidus entrant dans les sols par les semences enrobées ou par l'eau contaminée sont susceptibles d'être plus élevées à proximité de la source de contamination qu'ailleurs. Les deux situations se traduiraient par des concentrations à des « points chauds » à proximité des points d'entrée. À l'inverse, la plupart des tests de toxicité préparent les concentrations d'essais en parties par million (ou équivalent) et supposent un mélange homogène complet. Par conséquent, les niveaux d'exposition des vers de terre aux points chauds ou à proximité de ces points chauds dans les sols naturels seront par conséquent plus élevés que ne le laissaient prévoir les analyses de résidus d'échantillons en masse provenant des systèmes d'essais en laboratoire ou sur le terrain.

La mortalité ou les effets sur le comportement des individus vers de terre ne se traduisent pas nécessairement par des effets au niveau de la population avec des conséquences écologiques. Les populations d'organismes avec des générations à durée de vie courte (par exemple plusieurs générations par an ce qui est le cas pour la plupart des espèces de vers de terre) et/ou qui ont une capacité de dispersion

élevée ont une probabilité plus élevée de récupération après une diminution de population due aux pesticides que celles qui ont une durée de vie plus longue et une capacité de dispersion limitée (Kreutzweiser et Sibley 2013). Cependant, la tendance des néonicotinoïdes à persister dans les sols organiques réduit la probabilité de cette voie de récupération parce que les générations suivantes peuvent être exposés à des concentrations similaires à celles auxquelles la génération des parents a été exposée. Les stratégies d'histoire de vie et leurs influences sur les réponses de la communauté et la récupération suite à des effets nocifs des pesticides ont été mises en évidence par la modélisation des populations d'autres organismes non cibles (Wang et Grimm 2010), et des principes similaires peuvent être appliqués à l'évaluation des risques pour les populations de vers de terre et à l'ensemble des communautés. Les modèles de population qui prennent en compte les données démographiques différentielles et les taux de croissance de la population au sein des communautés ont montré leur capacité à fournir des évaluations plus exactes de l'impact potentiel des pesticides sur les populations et les communautés que les classiques estimations de concentration létale (Stark et Banks, 2003). L'utilisation de modèles écologiques capables d'intégrer une série de facteurs, y compris les variations saisonnières, les mécanismes d'assemblages des communautés, et les effets létaux et sublétaux des insecticides et leurs influences sur les risques pour les organismes, les populations ou les communautés, peuvent fournir des indications utiles sur les interactions récepteurs/pesticides et peuvent ainsi améliorer l'évaluation des risques (Bartlett et al. 2010). La modélisation écologique et démographique associée à la modélisation de l'exposition aux pesticides et au raisonnement à partir de cas (retracant l'expérience passée ou des informations de cas semblables d'expositions chimiques) peuvent fournir d'autres précisions et améliorer l'évaluation des risques pour les communautés de vers de terre et leurs fonctions écologiques (van den Brink et al. 2002). Les études de terrain empiriques de réponses de populations de vers de terre à des concentrations réalistes de néonicotinoïdes sur le terrain sont insuffisantes elles auraient pourtant grandement amélioré les efforts d'évaluation des risques.

#### *Invertébrés d'eau douce*

Les invertébrés aquatiques sont des composants extrêmement importants des écosystèmes aquatiques. Ils jouent des rôles en tant que décomposeurs, brouteurs, consommateurs de sédiments, parasites et prédateurs. Ils fournissent également une grande partie de la nourriture que les vertébrés associés à ces systèmes consomment. Les pesticides, y compris les néonicotinoïdes, atteignent les eaux de surface par diverses voies, en particulier au travers des dépôts atmosphériques (par dérive) après l'application par pulvérisation de divers types, par le ruissellement de surface, par l'infiltration d'eaux souterraines contaminées. Les invertébrés aquatiques sont particulièrement sensibles aux pesticides. Contrairement aux organismes terrestres, les organismes aquatiques ne peuvent généralement pas éviter l'exposition facilement en se déplaçant vers les zones non

contaminées, en particulier lorsque des pesticides sont solubles dans l'eau. L'absorption de pesticides par les invertébrés aquatiques se produit par la respiration (branchies et trachée), l'alimentation et à travers l'épiderme, que ce soit une cuticule ou la peau.

Les néonicotinoïdes ont été utilisés pendant une durée relativement plus courte que les autres insecticides. Cependant, dans les systèmes d'eau douce ils sont de plus en plus fréquemment décelés. Par exemple, la surveillance des eaux de surface pour les pesticides en Californie a révélé que l'imidaclopride dépasse souvent les lignes directrices de la qualité de l'eau de 1 ppb (Starner et Goh 2012). Dans l'Etat de Washington, aux Etats-Unis, le Département d'Etat de l'Ecologie et le Département d'Etat de l'Agriculture ont contrôlé les pesticides dans les rivières à saumons et les cours d'eau, y compris l'imidaclopride durant un certain nombre d'années et cet insecticide est souvent trouvé (<http://agr.wa.gov/PestFert/natresources/GDS/>).

Cependant, même si l'imidaclopride et d'autres néonicotinoïdes sont présents dans les systèmes d'eau douce, la question reste : dans quelle mesure ces concentrations affectent les organismes aquatiques dans ce milieu. Ici, nous discutons un certain nombre d'études traitant de la toxicité des néonicotinoïdes pour les invertébrés aquatiques et faisons quelques observations au sujet de leur impact potentiel sur les écosystèmes aquatiques.

#### *Des études en laboratoire*

*Crustacés amphipodes.* Plusieurs études de laboratoires ont été publiées sur la toxicité de l'imidaclopride, sur un éventail d'invertébrés aquatiques (tableau 7). Stark et Banks (2003) ont développé des données de toxicité aiguë et de toxicité au niveau de la population pour les puces d'eau (*Daphnia pulex*) exposées au thiaméthoxame (Actara). Le thiaméthoxame est l'insecticide le moins toxique évalué dans cette étude portant sur sept insecticides, et sa CL<sub>50</sub> de 41 ppm était bien au-dessus de toute concentration prévue qui devrait être trouvée dans les systèmes d'eau de surface.

Chen et al. (2010) ont estimé la toxicité aiguë de l'imidaclopride pour la puce d'eau, *Ceriodaphnia dubia* (CL<sub>50</sub> = 2,1 ppb), et la toxicité chronique pour les populations de *C. dubia*. Les effets de l'adjuvant le R-11, seul et en combinaison avec l'imidaclopride ont également été évalués. Dans l'étude sur la population, l'exposition de *C. dubia* à des concentrations d'imidaclopride de 0,3 ppb réduit la taille de la population à 19% de la population contrôle. Cette concentration est bien en dessous de la concentration prévue dans l'environnement par l'EPA de 17,4 ppb, ce qui indique que l'imidaclopride peut causer des dommages pour les invertébrés aquatiques dans leur milieu.

Les effets aigus et chroniques de l'imidaclopride sur l'amphipode *Gammarus pulex* ont été étudiés par Nyman et al. (2013). *G. pulex* a réduit son alimentation et la teneur en lipides de son organisme a été considérablement diminuée après une exposition à une concentration constante d'imidaclopride de 15 ppb. En outre, les individus du *G. pulex* étaient incapables de se déplacer et se nourrir après 14 jours

d'exposition constante ce dont il a résulté un taux élevé de mortalité.

Fait intéressant, le test standard utilisant l'organisme *Daphnia magna* est particulièrement insensible aux néonicotinoïdes (Beketov et Liess 2008). Une CL<sub>50</sub> d'environ 7000 ppb est de plusieurs ordres de grandeur au-dessus des concentrations efficaces trouvées pour plusieurs autres invertébrés. Ceci implique que la *Daphnia magna* ne peut pas être utilisé comme un organisme d'essai sensible de protection pour de nombreuses espèces.

**Insectes.** Les estimations de la toxicité aiguë des néonicotinoïdes sur les insectes aquatiques ont également été publiées. Les estimations de la CL<sub>50</sub> pour les insectes aquatiques varient de 3 ppb à 13 ppb. Concernant l'exposition à l'imidaclopride, les estimations pour la CL<sub>50</sub> pour l'éphémère *Baetis Rhodani*, la mouche noire *Simulium latigonium* (Beketov et Liess 2008) et le moustique *Aedes taeniorhynchus* (Song et al. 1997) sont de 8,5 ppb ; 3,7 ppb et 13 ppb, respectivement. Les estimations de la CL<sub>50</sub> pour *B. Rhodani* et *S. latigonium* exposés au thiaclopride ont été de 4,6 ppb et 3,7 ppb, respectivement (Beketov et Liess 2008). Une CL<sub>50</sub> chronique de 0,91 ppb a été signalé pour le moucheron *Chironomus tentans* exposé à l'imidaclopride (Stoughton et al. 2008). Une étude sur les effets de l'imidaclopride en mélange avec les insecticides organophosphorés diméthoate et chlorpyrifos sur le moucheron *Chironomus dilutus* a montré que l'imidaclopride a agi en synergie avec le chlorpyrifos et de manière antagoniste avec le diméthoate (LeBlanc et al. 2012).

**Oligochètes.** Sardo et Soares (2010) ont étudié les effets de l'imidaclopride dans le milieu aquatique sur l'oligochète *Lumbriculus variegatus*. Ils ont exposé cette espèce de ver à des concentrations d'imidaclopride allant de 0,05 à 5,0 mg/kg dans les sédiments. La mortalité a été assez faible (35% dans la concentration la plus élevée), mais *L. variegatus* évite les sédiments contaminés par l'imidaclopride. En outre, la croissance individuelle (biomasse) a été inhibée à toutes les concentrations testées par rapport à celles des témoins.

**Etudes en mésocosmes.** Alexander et al. (2008) ont étudié l'effet de l'imidaclopride par impulsion (par expositions discontinues. NDT) durant 12 jours, ou par une exposition continue pendant 20 jours, sur les éphémères *Epeorus spp.* et *Baetis spp.* Dans les deux types d'exposition les densités de nymphes ont été réduites. Les effets sublétaux ont aussi été observés. Les adultes étaient plus petits et avaient une taille de la tête et du thorax plus petite après des expositions à des concentrations aussi faibles que 0,1 ppb d'imidaclopride. Cependant, ces effets n'ont été observés que chez les mâles.

Dans les systèmes de test de communauté, les néonicotinoïdes ont eu des effets puissants, en particulier sur les insectes (Hayasaka et al. 2012). Toutefois, à notre connaissance, toutes les expériences portant sur une relation dose-réponse ont observé des effets aux plus faibles concentrations évaluées. Par conséquent, il est difficile d'établir une NOEC. Dans les études en mésocosmes en plein air, une LOEC de 1,63 ppb a été estimée pour l'imidaclopride. Avec 5% de réduction de l'abondance des invertébrés, les

effets nocifs sur les communautés benthiques ont été constatés par Pestana et al. (2009). Pour le thiaclopride, des effets importants sur les insectes sensibles à vie longue, ont été observés lors d'une exposition pulsée à 0,1 ppb (Liess et Beketov 2011), ce qui constitue la plus faible concentration efficace observée jusqu'à présent dans les communautés.

Berghahn et al. (2012) ont mené des études en mésocosmes de cours d'eau dans lequel 3 fois, à une semaine d'intervalle, l'imidaclopride (12 ppb) a été introduit par impulsion pendant 12h. Les résultats ont montré que la dispersion des insectes et des amphipodes *Gammarus roeseli* avait augmenté après l'exposition aux impulsions à l'imidaclopride. Ces résultats montrent que l'imidaclopride a eu un effet négatif sur *G. roeseli*.

Dans une autre étude en mésocosme de cours d'eau, Böttger et al. (2013) ont évalué les effets des impulsions d'imidaclopride sur *G. roeseli*. Dans ce cas, par rapport aux groupes contrôles, dans les 3 dernières semaines de l'étude le nombre de femelles portant un couvain a diminué.

Les populations d'un invertébré aquatique, le moustique commun *Culex pipiens* exposé sur plusieurs générations à des impulsions répétées de faibles concentrations de thiaclopride, n'ont cessé de baisser et n'ont pas récupéré en présence d'une espèce concurrente moins sensible, la puce d'eau *D. magna*. En revanche, en l'absence d'un compétiteur, les effets de l'insecticide sur les espèces les plus sensibles ont été observés seulement à des concentrations d'un ordre de grandeur supérieur, et ces espèces ont récupéré plus rapidement après la contamination. Les auteurs concluent que **chez** des populations **exposées** à des impulsions répétées de toxique, **lesquelles font aussi** face à une compétition interspécifique, cette exposition peut entraîner au bout de plusieurs générations des effets à faibles doses (Liess et al. 2013).

**Risque pour les écosystèmes aquatiques.** Un distribution de sensibilité des espèces (DSE) en référence à des données de toxicité aiguë pour un large éventail d'espèces, y compris les ostracodes, cladocères et d'autres organismes aquatiques, prédit une concentration dangereuse pour 5% des espèces aquatiques (HC5) pour l'imidaclopride dans l'eau dans une gamme de 1,04 ppb à 2,54 ppb (Sanchez-Bayo et Kouchi 2012).

Van Dijk et al. (2013) ont développé une analyse de régression pour l'abondance des espèces de macro-invertébrés aquatiques et les concentrations d'imidaclopride, à proximité, dans les eaux de surface néerlandaises. Les données de 8 ans de suivi à l'échelle nationale couvrant 7380 sites différents d'échantillonnages des macro-invertébrés et 801 sites différents d'échantillonnages d'imidaclopride ont été regroupées. Ensuite, les échantillons biologiques (l'abondance des macro-invertébrés) ont été combinés aux échantillons chimiques (concentrations d'imidaclopride) à proximité (dans l'espace et le temps), puis, une analyse statistique de la totalité des données groupées combinées a été réalisée. Ils ont constaté que l'abondance des macro-invertébrés décline constamment le long du gradient de la médiane de concentration croissante d'imidaclopride à proximité des données groupées. Ce modèle s'est avéré être robuste: il est indépendant de l'année et du lieu. Dans l'ensemble, une relation négative significative (P < 0,001)

a été observée entre l'abondance de toutes les espèces de macro-invertébrés et la concentration d'imidaclopride à proximité. Une relation négative significative a également été trouvée pour l'abondance de chacun des ordres d'amphipodes, de basommatophores, de diptères, d'éphéméroptères et d'isopodes, groupés, et pour plusieurs espèces séparément. L'ordre des odonates avait une relation négative très proche du seuil significatif de 0,05 ( $P = 0,051$ ). Conformément aux recherches antérieures, une relation positive entre l'abondance et la pollution à l'imidaclopride à proximité a été trouvée pour l'ordre des actinéridés. Cependant, d'autres pesticides ne sont pas inclus dans les analyses de Van Dijk et al. (2013). Par conséquent, la possible colinéarité ou des synergies entre les néonicotinoïdes et d'autres polluants doivent encore être explorées (Vijver et Van den Brink 2014).

L'exposition aux pesticides a été identifiée comme un facteur de forte réduction de la quantité et de l'abondance des espèces d'invertébrés vulnérables dans les cours d'eau en utilisant l'approche SPEAR (Liess et von der Ohe 2005). L'approche a été étendue à partir des cours d'eau allemands australien, danois, français et finlandais, les cours d'eau révélant les mêmes effets dus à l'exposition aux pesticides sur les espèces d'invertébrés vulnérables (Rasmussen et al. 2013 ; Liess et al. 2008 ; Schäfer et al. 2012). Beketov et al. (2013) ont analysé l'effet de la présence de pesticides sur la richesse en espèces d'invertébrés en Europe (Allemagne et France) et les cours d'eau australiens. Ils ont constaté une réduction globale de la richesse en espèces de 42% pour l'Europe et 27% pour l'Australie par comparaison entre les cours d'eau fortement contaminés et ceux non contaminés. Cependant, dans le contexte de l'évaluation de l'impact des néonicotinoïdes, ces études sont limitées car la toxicité était principalement due aux insecticides autres que les néonicotinoïdes, puisque l'utilisation générale de ces derniers n'a augmenté que récemment.

Les résultats d'études de laboratoire et en mésocosmes indiquent que les invertébrés aquatiques sont très sensibles aux insecticides néonicotinoïdes. Cependant, la plupart des études que nous avons trouvées dans la littérature ont été menées avec l'imidaclopride. Pour l'évaluation des risques des pesticides, les résultats publiés à ce jour indiquent qu'il peut être difficile de prédire les effets au niveau de la communauté en utilisant le système d'évaluation de l'effet au niveau aquatique et des données de toxicité aiguë et chronique. Si l'on extrapole à partir du système de tests avec une espèce unique les effets aigus et chroniques, les facteurs d'évaluation définis par le principe uniforme de la législation européenne en la matière (1107/2009) ne permettent pas de prédire les concentrations sûres avec de multiples espèces en mésocosmes extérieurs. Par exemple, les effets aigus de laboratoire du thiaclopride sur des espèces d'insectes sensibles montrent que les effets se produisent après exposition à une gamme de 3 ppb à 13 ppb. En conséquence, un facteur d'évaluation de 100 indique une concentration sécuritaire de 0,03 ppb à 0,13 ppb pour le thiaclopride. Cependant, les résultats en mésocosmes extérieurs, employant une exposition pulsée, montrent une LOEC en-dessous de 0,1 ppb pour le thiaclopride (Liess et Beketov 2011). Des concentrations plus faibles n'ont pas été étudiées. Naturellement, un facteur d'évaluation supérieur à

100 est nécessaire pour identifier les concentrations de sécurité sur la base des résultats de l'essai de toxicité aiguë. Pour la HC5 calculée sur les concentrations létales aiguës, un facteur d'évaluation de plus de 10 est nécessaire (Liess et Beketov 2012). En outre, dans une étude en laboratoire, les effets chroniques chez des espèces d'insectes sensibles apparemment après l'exposition à 0,91 ppb d'imidaclopride. Si on emploie un facteur d'évaluation de 10 cela impliquerait une concentration sécuritaire de l'ordre de 0,1 ppb d'imidaclopride. Cependant, cette concentration, d'après des résultats obtenus dans des communautés d'organismes complexes, n'est pas sûre. Malheureusement, au meilleur de notre connaissance, aucune enquête au niveau de la communauté exposée à l'imidaclopride évaluant un éventail de concentrations inférieures à 0,1 ppb, n'a été publiée. Ce type d'étude permettrait de déterminer une LOEC pour l'imidaclopride. Dans l'ensemble, les résultats de la littérature indiquent que certains néonicotinoïdes ont le potentiel de générer des dommages importants aux écosystèmes aquatiques en causant des effets négatifs chez les individus et les populations d'invertébrés aquatiques à des concentrations très faibles. Les concentrations de protection pour ces produits dans les systèmes aquatiques doivent encore être déterminées.

#### *Invertébrés marins et côtiers*

Il existe très peu d'informations concernant l'évaluation de la toxicologie environnementale et l'évaluation de la contamination par les néonicotinoïdes des écosystèmes marins. La caractérisation toxicologique de l'environnement standardisé se concentre sur seulement quelques modèles d'espèces et examine rarement les espèces qui représentent les organismes marins pierre angulaire des écosystèmes côtiers (CCME, 2007). Le contrôle et la surveillance de la pollution des néonicotinoïdes dans les habitats côtiers marins sont inexistantes.

*Toxicologie.* Les premières études écotoxicologiques marines sur les néonicotinoïdes publiées concernaient les crevettes opossum (*Mysidopsis bahia*) qui sont distribuées dans les eaux marines côtières (Ward 1990, 1991 ; Lintott 1992). La médiane de la  $CL_{50}$  (à 96 h) pour la qualité technique de l'imidaclopride était de 34,1 ppb avec une NOEC de 13,3 ppb (Ward, 1990). L'exposition à une formulation commerciale (ADMIRE) d'imidaclopride a entraîné une NOEC de 21 ppb. Les concentrations maximales admissibles d'imidaclopride pour *M. bahia* étaient de 23 parties par trillion (ppt) pour les effets de croissance et 643 ppt pour les effets sur la reproduction (Ward, 1991).

L'étude toxicologique d'autres arthropodes marins comprend *Artemia spp.* et un moustique de l'eau saumâtre (*Aedes taeniorhynchus*). La  $CL_{50}$  à 48 h pour *Artemia* était de 361 ppm, tandis que pour *Aedes* une  $LC_{50}$  à 72h était de 21ppb, et une  $LC_{50}$  à 48h de 13ppb pour un stade précoce de développement (Song et al. 1997 ; Song et Brown, 1998). Osterberg et al. (2012) ont démontré que chez le crabe bleu (*Callinectes sapidus*), les mégalopes (stade post larvaire du crabe. NDT) étaient d'un ordre de grandeur plus sensible que les juvéniles aux effets létaux de l'imidaclopride (24 h- $CL_{50}$  =

10 ppb pour les mégaloïdes vs 24 h-CL50 = 1,1 ppb pour les juvéniles) (?).

Il n'y a pas d'études connues publiées par l'OCDE/EPA de paramètres de bases à étudier chez les invertébrés marins non-artropodes. Pour la moule de mer, *Mytilus galloprovincialis*, une enquête transcriptomique et protéomique a été menée en réponse à l'exposition à l'imidaclopride et au thiaclopride (Dondero et al. 2010). Cette étude a conclu que les deux néonicotinoïdes induisent des réponses toxicodynamiques distinctes et que des précautions doivent être respectées lors de l'évaluation des risques écologiques pour les mélanges chimiques qui ciblent le même récepteur. Rodrick (2008) a prouvé que l'imidaclopride a un effet sur l'immuno-compétence de l'hémocyte de l'huître et qu'il y avait un effet additif lorsque les huîtres avaient été exposées à un stress dû à la fois à la salinité et à l'exposition à l'imidaclopride. Tomizawa et al. (2008) ont utilisé le gastéropode *Aplysia californica* comme modèle pour caractériser l'imidaclopride et le thiaclopride comme des agonistes de la protéine de liaison l'acétylcholine, indiquant que les néonicotinoïdes pourraient également affecter les gastéropodes marins.

*Pollution de l'environnement.* Il n'y a aucuns travaux publiés concernant la contamination de l'environnement marin par les néonicotinoïdes. Jusqu'à récemment, il y a eu peu d'intérêt du public (comme si) les néonicotinoïdes ne polluaient pas les milieux marins via le ruissellement des terres continentales. Au moins aux États-Unis, cette attitude est en train de changer. Dans l'Etat de Washington en 2013, l'Association des producteurs « Willapa-Grays Harbor Oyster » a reçu une homologation conditionnelle de l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis pour utiliser l'imidaclopride pour contrôler la crevette fouisseuse native dans Willapa Bay, Washington où elle pourrait menacer les bancs de coquillages commerciaux (EPA Reg. no. 88867-1). À Hawaii, il y a eu des protestations publiques et un contrôle de l'utilisation des pesticides néonicotinoïdes dans les pratiques agricoles industrielles et leurs impacts négatifs probables sur les récifs coralliens et les herbiers marins (Sergio 2013). Pour les deux, Hawaii et les îles Vierges américaines, il est à craindre que l'usage des néonicotinoïdes comme méthode de lutte contre les termites puisse être polluant et avoir un impact sur les ressources côtières.

## Conclusion

À des niveaux de pollution réaliste de terrain, les néonicotinoïdes et le fipronil ont généralement des effets négatifs sur la physiologie et la survie d'un large éventail d'invertébrés non-cibles dans les habitats terrestres, aquatiques, marins et benthiques. Les effets sont le plus souvent découverts par des essais in vitro, en utilisant un nombre limité d'espèces d'essai. Cela signifie qu'il existe un déficit d'information pour la grande majorité des autres invertébrés. Dans les tests in vitro pour établir les seuils de concentration environnementale sécuritaire l'établissement de ces seuils est entravé par le fait que la plupart des protocoles de tests sont basés sur une méthodologie dépassée, validée

pour des pesticides avec des caractéristiques chimiques et toxicologiques très différentes. Des méthodes améliorées nouvelles sont nécessaires pour traiter spécifiquement la toxicologie unique de ces produits chimiques neurotoxiques, y compris leurs effets non létaux et les effets synergiques pour une variété d'organismes terrestres, aquatiques et marins.

La somme de tests in vivo de terrain publiés est petite et les configurations expérimentales souffrent souvent de l'incapacité à contrôler les variations dans les conditions naturelles (ou semi-naturelles) ou d'avoir une puissance statistique insuffisante en raison des coûts financiers élevés pour mener de grandes expériences de terrain (statistiquement) robustes. Compte tenu du corps clair de preuves présentées dans le présent document, montrant que les niveaux de pollution existants pour les néonicotinoïdes et le fipronil résultent actuellement des utilisations autorisées et dépassent souvent la concentration la plus faible pour un effet nocif observé, et donc que ces niveaux sont susceptibles d'avoir des impacts biologiques et écologiques négatifs de grande envergure, les auteurs suggèrent fortement que les organismes de réglementation et régulation appliquent le Principe de Précaution et durcissent la réglementation sur les néonicotinoïdes et le fipronil.

(Traduction, Christian Pacteau)