Environ Sci Pollut Res
DOI 10.1007/s11356-014-3180-5 Springer

Examen des effets directs et indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés

David Gibbons & Christy Morrissey & Pierre Mineau

(Voir Tableaux et bibliographie dans l'article original en anglais sur le site http://link.springer.com/article/10.1007/s11356-014-3180-5)

Received: 7 April 2014 / Accepted: 6 June 2014 /
The Author(s) 2014. This article is published with open access at Springerlink.com

Responsible editor: Philippe Garrigues

D. Gibbons (*)
RSPB Centre for Conservation Science, RSPB, The Lodge, Sandy, Bedfordshire SG19 2DL, UK e-mail: david.gibbons@rspb.org.uk

C. Morrissey
Department of Biology, University of Saskatchewan, 112 Science Place, Saskatoon, Saskatchewan S7N 5E2, Canada
C. Morrissey

School of Environment and Sustainability, University of Saskatchewan, 117 Science Place, Saskatoon, Saskatchewan S7N 5E2, Canada

P. Mineau
Pierre Mineau Consulting, 124 Creekside Drive, Salt Spring Island V8K 2E4, Canada

Published online: 18 June 2014

Springer

Résumé Les inquiétudes sur le rôle des pesticides affectant les populations de la faune des vertébrés ont récemment conduit à mettre l'accent sur les produits systémiques exerçant une toxicité à large spectre. Étant donné que les néonicotinoïdes sont devenus la classe des insecticides dont l'usage a la croissance la plus forte dans le monde, nous passons en revue ici 150 études concernant leurs effets directs (toxiques) et leurs effets indirects (e.g. la chaîne alimentaire) sur la faune vertébrée : les mammifères, les oiseaux, les poissons, les amphibiens et les reptiles. Nous nous concentrons sur deux néonicotinoïdes, l'imidaclopride et la clothianidine, et un troisième insecticide, le fipronil, lequel agit de manière systémique similaire. L'imidaclopride et le fipronil ont été reconnus toxiques respectivement pour de nombreux oiseaux et la plupart des poissons. Les trois insecticides ont des effets sublétaux, allant des effets génotoxiques et cytotoxiques et de l'altération de la fonction immunitaire à la réduction de la croissance et du succès reproducteur, souvent à des concentrations bien inférieures à celles associées à la mortalité. L'utilisation de l'imidaclopride et la clothianidine en traitement de semences sur certaines cultures présente des risques pour les petits oiseaux et l'ingestion de quelques semences traitées seulement peut entraîner une mortalité ou altérer la reproduction des espèces d'oiseaux sensibles. En revanche, les concentrations dans l'environnement de l'imidaclopride et la clothianidine semblent être à des niveaux inférieurs à ceux qui entraîneraient la mortalité des vertébrés des eaux douces bien que les effets sublétaux puissent se produire. Cependant, certaines concentrations de fipronil enregistrées dans l'environnement, peuvent être suffisamment élevées pour nuire aux poissons. Les effets indirects sont rarement pris en compte dans les processus d'évaluation des risques et il existe un manque de données en dépit des effets potentiels exercés au niveau de la population. Notre recherche a permis de trouver deux études de cas sur les effets indirects sur le terrain. Dans l'une, la réduction des invertébrés par l'utilisation à la fois de l'imidaclopride et du fipronil a conduit à un retard de croissance chez une espèce de poisson. L'autre constate des réductions de populations de deux espèces de lézards liées à des effets du fipronil sur leurs proies, les termites. Les données présentées ici indiquent que les insecticides systémiques, les néonicotinoïdes et le fipronil, sont capables d'exercer des effets directs et indirects sur la faune vertébrée terrestre et aquatique, justifiant ainsi un examen plus approfondi de leur innocuité pour l'environnement.

Mots-clés pesticides. Néonicotinoïdes. Imidaclopride. Clothianidine. Fipronil. Vertébrés. Faune. Mammifères. Oiseaux. Poissons. Amphibiens. Reptiles. Evaluation des risques

Aperçu des impacts des pesticides sur la faune vertébrée

Bien que les vertébrés soient la cible prévue de seulement 2% des pesticides sur le marché, des effets non intentionnels de ces pesticides sur les populations de vertébrés ont été démontrés et sont bien documentés (e.g. Sánchez-Bayo 2011). Les pesticides peuvent exercer leur impact sur les vertébrés soit directement, par leur

toxicité, soit indirectement, par exemple en réduisant la ressource alimentaire.

Les effets directs peuvent être le résultat de plusieurs et différentes voies d'exposition : par ingestion du produit formulé (par exemple, la consommation de semences enrobées d'insecticides ; Avery et al 1997; Prosser et Hart 2005.), par absorption par la peau suite à une pulvérisation (Mineau 2011) ou par la consommation de proies contaminées. L'exemple probablement le plus notable parmi ces voies d'exposition a été l'impact dramatique des pesticides organochlorés, notamment le DDT et son métabolite le DDE, sur les populations d'oiseaux de proie (Ratcliffe 1967; Newton 1995). Selon le degré d'intoxication, les effets directs des pesticides peuvent soit carrément tuer les vertébrés soit exercer des effets sublétaux, par exemple, sur la croissance et la reproduction (Sánchez-Bayo 2011). Les progrès accomplis depuis l'ère des organochlorés ont contribué à garantir que les composés qui sont actuellement en cours d'élaboration et enregistrés soient généralement moins persistants et ne soient pas aussi facilement bioaccumulables dans la chaîne alimentaire.

Plus récemment cependant, l'intérêt s'est tourné vers l'investigation du potentiel d'effets indirects qui sont la conséquence de la perte de la quantité ou de la qualité des proies, associée à l'utilisation de pesticides, ou de la modification de l'habitat (Sotherton et la Hollande 2002 ; Boatman et al. 2004 ; Morris et al. 2005). C'est particulièrement le cas dans les pays où l'utilisation de pesticides hautement toxiques a été contrôlée et la fréquence des impacts directs réduite (Mineau et al. 1999).

Au cours des deux dernières décennies en effet, une nouvelle classe d'insecticides, les néonicotinoïdes, est devenue la plus importante et a été l'objet de la plus forte croissance d'usage des cinq grandes classes chimiques d'insecticides sur le marché mondial (Jeschke et Nauen 2008 ; Jeschke et al. 2011 ; Tomizawa et Casida 2011; Casida et Durkin 2013). Lorsqu'ils sont utilisés en tant que produits de protection des plantes, les néonicotinoïdes agissent, que l'application soit faite en enrobage de semences ou sur les sols, par systémie dans toute la plante (après absorption par les racines, l'insecticide est véhiculé dans toute la plante par la sève). Un autre insecticide récent, le fipronil, un phényl-pyrazole (fiprole) plutôt qu'un néonicotinoïde, agit également de la même manière et a une toxicité et une persistance similaires (Grant et al. 1998). Par voie de conséquence, les néonicotinoïdes et le fipronil sont parfois appelés conjointement «insecticides systémiques», bien qu'il existe aussi des produits plus anciens qui peuvent être qualifiés de «systémiques», par exemple l'insecticide acéphate, un organophosphoré, et un organo-arsenical, le méthane-arsonate monosodique. Les néonicotinoïdes sont, en particulier, communément utilisés comme traitements de semences. L'utilisation du traitement de semences en tant que méthode d'application pratique et efficace exerce un attrait très répandu dans l'industrie agricole. Par conséquent, les traitements systémiques de semences sont maintenant utilisés sur la plupart des cultures agricoles à travers le monde (Garthwaite et al 2003 ; Jeschke et al. 2011).

Ici, nous nous appuyons sur les avis de chercheurs (e.g. Goulson 2013 ; Köhler et Triebskorn 2013 ; Mineau et Palmer 2013) pour examiner les preuves et le potentiel d'effets directs et indirects des deux insecticides néonicotinoïdes systémiques d'usage commun, l'imidaclopride et la clothianidine, et le fipronil, sur la faune des vertébrés.

Mode d'action des insecticides systémiques

Les néonicotinoïdes agissent au sein du système nerveux central en interférant avec la transmission neuronale. Ils se lient aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) dans le neurone post-synaptique, agissant ainsi en tant que « faux neurotransmetteurs » (agonistes). Cette interférence avec le signal du neurotransmetteur de l'acétylcholine est cause d'une activation continue du récepteur qui conduit à des symptômes neurotoxiques. Les néonicotinoïdes ont une plus grande affinité pour les récepteurs des insectes auxquels ils se lient donc ainsi plus fortement que pour ceux des vertébrés, mammifères ou autres, de sorte que leur toxicité pour les mammifères est inférieure à ce qu'elle est pour les insectes et que la réversibilité de l'intoxication est, pour les vertébrés, supérieure (Tomizawa et Casida 2005 ; Jeschke et al. 2011). Le fipronil agit de même, mais à la place des récepteurs nicotiniques, il se lie aux récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), lien dont il résulte une activation similaire en continu du système nerveux central (Tingle et al. 2000, 2003). Comme avec les néonicotinoïdes, le fipronil a une plus faible affinité pour les récepteurs de vertébrés que pour ceux des invertébrés (Grant et al. 1998). Malgré la plus faible toxicité de ces produits pour les vertébrés que pour les invertébrés, il existe de nombreuses preuves que les vertébrés subissent des effets toxiques, mais à des concentrations nettement plus élevées que celles pour de nombreuses espèces cibles et non-cibles d'invertébrés (par exemple Tingle et al. 2000, 2003 ; Cox 2001; SERA 2005 ; DeCant et Barrett 2010 ; Mineau et Palmer 2013).

Matériels et méthodes

Pour évaluer les impacts probables des néonicotinoïdes et du fipronil sur les vertébrés, une recherche documentaire a été effectuée à l'aide du Web of Science et Google Scholar. Les termes de recherche étaient : [produit] et [taxon], où [produit] était les néonicotinoïdes tels que l'imidaclopride, le thiaclopride, la clothianidine, le thiamethoxam, l'acétamipride, le nitenpyram, le dinotéfurane ou le fipronil ; et [taxon] était vertébré * tels que mammifère, oiseau *, reptile*, amphibien* et poisson *. En outre, des recherches spécifiques ont été faites sur quelques espèces communes utilisées dans les essais de toxicité (par exemple, le rat) et aussi en suivant les références citées dans les publications trouvées par la recherche. L'examen s'appuie également fortement sur le rapport, récemment publié, de Mineau et Palmer (2013) concernant la toxicité directe et indirecte des néonicotinoïdes pour les oiseaux. Plusieurs études de l'industrie, lesquelles n'ont pas été officiellement publiées, mais qui faisaient partie du processus d'approbation des produits, ont été examinées par Mineau et Palmer et ont été incluses ici. Bien que des études de l'industrie examinées par les organismes de réglementation puissent recevoir autant de critiques que la littérature publiée révisée par les pairs, l'accent est mis ici sur les rapports publiés et la littérature primaire.

Les informations suivantes ont été extraites de chaque étude : le produit utilisé, la dose et si oui ou non elle a été présentée comme une dose unique (aiguë) ou sur une durée (exposition chronique, par exemple plus de 30 jours) ; les effets sur les organismes individuels, en particulier s'il y avait un impact sur la survie, la reproduction, la croissance et le développement, ou d'autres effets sublétaux, tels des effets neurocomportementaux, génotoxiques, cytotoxiques, et immunotoxiques ; l'impact sur les populations de l'espèce animale (par exemple sur les populations locales) ; le type d'étude, en laboratoire ou sur le terrain séparément ; et, enfin, si c'était une étude des effets toxiques directs ou indirects (conduisant par exemple à des changements dans la disponibilité de la nourriture). Dans certains cas, les études individuelles ont couvert plus d'une espèce, mais chacune est traitée ici comme une étude d'impact d'espèces séparées.

La grande majorité des études est issue de travaux en laboratoire (139/152 = 91%) et la plupart (146, 96%) sont des études de toxicité directe. Bien que commune en écotoxicologie, l'absence de tests sur le terrain et la pratique prépondérante de tests de toxicité directe en laboratoire limite notre capacité à interpréter les résultats dans des conditions réalistes de terrain. Les expériences de terrain ont fourni une partie de la preuve la plus convaincante de l'impact des néonicotinoïdes sur les populations dans leur milieu naturel (par

exemple Whitehorn et al. 2012), et il existe une reconnaissance croissante que le maintien de la complexité écologique dans les études sur le terrain est souhaitable (Suryanarayanan 2013).

Les taxons les plus étudiés sont les mammifères (58), les oiseaux (47) et les poissons (32), avec beaucoup moins d'études sur les amphibiens (12) et les reptiles (3). Au sein de ces taxons individuels, les mammifères les plus couramment étudiés sont le rat, Rattus norvegicus, (39) et de la souris, Mus musculus, (9) ; les oiseaux les plus couramment étudiés sont le colin de Virginie, Colinus virginianus, (8) et le canard colvert, Anas platyrhynchos, (6), les deux espèces tests prescrites par les régimes d'approbation réglementaire en Amérique du Nord ; et les poissons les plus couramment testés sont la truite arc-en-ciel, Oncorhynchus mykiss, (6) et le tilapia du Nil, Oreochromis niloticus, (6).

La plupart de ces travaux ont étudié les effets de deux néonicotinoïdes, l'imidaclopride (72) et de la clothianidine (19), ainsi que le fipronil (47) à eux trois, ces insecticides représentent 91% de toutes les études. Compte tenu de la rareté des informations recueillies pour les autres néonicotinoïdes, cette revue se concentre sur ces trois produits seulement.

Les effets directs des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés

Toxicité pour les vertébrés

Les tests standards de toxicité des pesticides sur les vertébrés terrestres s'effectuent à travers une étude de toxicité aiguë (<96 h). Les tests sur les organismes sont réalisés par gavage (c-à-d avec un tube d'alimentation) ou par l'alimentation à des concentrations variables. La dose estimée de pesticide associé à la mort de la moitié des sujets tests est enregistrée et exprimée en pourcentage du poids corporel (par exemple la dose létale 50%, DL50, exprimée en milligrammes de pesticide par kg de poids corporel). La toxicité pour les organismes aquatiques est généralement mesurée, comme la CL50 ou la concentration dans l'eau (par exemple, mg/L), en recherchant à partir de quel seuil cette dernière est toxique pour les organismes testés. De nombreux tests de DL50 et CL50 ont été entrepris sur les vertébrés, et ceux qui se trouvaient dans le cadre de cet examen sont présentés pour l'imidaclopride, la clothianidine et le fipronil dans le tableau 1. Comme on le voit, la toxicité relative de ces produits varie à la fois selon les produits et selon les espèces.

L'Agence américaine de protection de l'environnement a mis au point une classification éco-toxicologique basée sur les évaluations des DL50 et CL50 (US EPA 2012). Elle classe la toxicité aiguë d'un produit donné sur une espèce en particulier en pratiquement non toxique, légèrement toxique, modérément toxique, hautement toxique ou très toxique en se basant sur les gammes de doses de létalité. Les effets sublétaux ou sur la reproduction ne sont pas inclus dans cette classification. En raison des définitions de l'EPA, et au sein de la gamme très restreinte d'espèces évaluées, l'imidaclopride montre une toxicité modérée à élevée pour les oiseaux, en particulier pour les espèces les plus petites telles que les moineaux domestiques (Passer domesticus), les canaris (Serinus canaria), et on approche de la très forte toxicité pour les perdrix grise (Perdix perdix). Il est modérément toxique pour les rats et les souris et pratiquement non toxique pour les poissons (à l'exception de la truite arc-en-ciel, en particulier ses alevins) et les amphibiens. Les niveaux de toxicité de la clothianidine vont de modérée à pratiquement non toxique pour les oiseaux et les mammifères, alors que pour les poissons étudiés, elle varie de légèrement toxique à pratiquement non toxique. En revanche, pour toutes les espèces de poissons étudiées, le fipronil est soit très toxique soit extrêmement toxique, par exemple pour le crapet arlequin (Lepomis macrochirus). Le fipronil est en plus très toxique pour les trois oiseaux étudiés : la Perdrix rouge (Alectoris rufa), le faisan de Colchide (Phasianus colchicus) et le colin de Virginie, et modérément toxique pour les souris et les rats.

L'une des graves lacunes de l'évaluation des risques actuelles est la sous-estimation de la variation de susceptibilité interspécifique à l'insecticide qui ressort du tableau 1. Trop peu d'espèces sont habituellement testées pour obtenir la variation réelle des réponses de la vaste gamme des espèces exposées à l'état sauvage. Mineau et Palmer (2013) discutent cette question longuement pour les néonicotinoïdes et proposent des seuils améliorés provenant de la distribution de la sensibilité des espèces et des « doses de danger » estimées (HD_5-la valeur de la DL_{50} des de 5% à la queue de la distribution de la sensibilité pour une espèce).

Impacts sur la croissance, le développement et la reproduction des vertébrés

Bien que ne causant pas nécessairement la mortalité chez les adultes, l'intoxication par l'imidaclopride, la clothianidine et le fipronil peut réduire la croissance, le développement et la reproduction des vertébrés (tableau 2). Les effets sur la reproduction se manifestent par une variété de voies chez les mammifères, mais ils se manifestent surtout en réduisant la production de sperme, en exerçant des effets négatifs sur le processus de fécondation, en réduisant le taux de grossesse, en augmentant les taux de mortalité embryonnaire, de mortalité à la naissance et de naissances prématurées, en réduisant le poids de la progéniture. Chez les oiseaux, des anomalies testiculaires et des réductions de la fécondité, de l'épaisseur de la coquille, de la taille de l'embryon, du succès à l'éclosion et de la survie des poussins et des anomalies comportementales des poussins ont été rapportées. La perte de poids, ou le gain de poids avec des facultés affaiblies, parfois associés à une réduction ou un arrêt de l'alimentation, ont été observés dans tous les taxons étudiés.

La plupart des études trouvées sont requises à des fins d'homologation des pesticides. Chez les oiseaux, un essai de reproduction est souvent mené sur les espèces de test standard tels que le colin de Virginie ou le canard colvert. Mais il s'agit d'un test tronqué, qui consiste à alimenter à concentration constante du pesticide les animaux de l'étude, puis à recueillir les œufs et les incuber artificiellement. Il n'y a donc pas d'inclusion de points terminaux d'évaluation de la capacité des oiseaux testés à incuber, faire naître ou élever leurs petits. Le test est un hybride entre un test de toxicité chronique d'un stade d'une vie unique et un test de véritables effets sur la reproduction, il a fait l'objet d'une analyse et de critiques (Mineau et al 1994, 1996 ; Mineau 2005). En raison de la durée plus longue de l'épreuve, et de la paire occasionnelle (des deux tests) qui ne parvient pas à se lier, une variante parasite est ainsi introduite, diminuant le pouvoir de détecter les déficits en matière de reproduction à partir des échantillons de taille limitée. D'autre part, parce que seulement des aliments contaminés sont offerts aux oiseaux, sans autre choix alimentaire, le test peut surestimer l'exposition réaliste à l'état sauvage. Cependant, il reste le seul test disponible avec lequel modéliser le risque des effets non-aigus sur la faune aviaire.

Autres effets sublétaux sur les vertébrés

Une série d'autres effets de ces insecticides a été documentée pour les vertébrés (tableau 2), en dehors de ceux indiqués concernant la survie, la croissance, le développement et la reproduction. Parmi les mammifères -principalement les rats et les souris- ceux-ci comprennent les effets génotoxiques et cytotoxiques, des troubles neurocomportementaux chez la progéniture (y compris in utero), des lésions de la thyroïde, l'atrophie de la rétine, la réduction du mouvement et l'augmentation des mesures d'anxiété et de peur. Les moineaux domestiques peuvent être frappés d'incoordination et incapables de voler et les études sur la caille japonaise et la perdrix rouge ont montré respectivement des ruptures d'ADN et une réponse

immunitaire réduite. De même, les études sur les poissons ont montré des changements dans la transcription des gènes, des dommages érythrocytaires, la désintégration du tissu gonadique, des troubles de la natation, la dégénérescence de la notochorde et des défauts de l'appareil locomoteur chez les embryons et les larves. Dans un cas, le poisson médaka (Oryzias latipes), dans les rizières expérimentales, est devenu physiologiquement stressé (stress caractérisé par une augmentation du métabolisme anaérobie conduisant à une hyperglycémie) suite à une exposition à l'imidaclopride à 1,5 fois le taux d'application recommandé dans le commerce, et par la suite il est devenu sensible à l'infestation par le protozoaire ectoparasite, Cychlochaeta (*Trichodina domerguei*) (Sánchez-Bayo et Goka 2005). Bien que la majorité des études documente des impacts néfastes de l'exposition au groupe des néonicotinoïdes ou fipronil, les doses efficaces n'ont généralement pas été adaptées à des conditions d'exposition réaliste de terrain.

Pour beaucoup de ces produits, peut-être, des effets sublétaux plus subtils (Tableau 2) se produisent à des concentrations beaucoup plus faibles que les effets létaux (tableau 1). Ainsi, alors que des doses orales uniques de 425-475 et 5000 mg/kg d'imidaclopride et de clothianidine, respectivement, vont tuer les rats, des doses quotidiennes inférieures de 0,21-100 et 18-66 mg/kg/jour ont toujours causé une gamme d'effets sublétaux. Par exemple, respectivement, une dose quotidienne de 10-19 ou 31 mg/kg/jour d'imidaclopride ou de clothianidine provoque une réduction de croissance de jeunes rats et, dans le cas de la clothianidine, une plus grande fréquence de la mortinatalité. Même à des doses aussi faibles que 0,21 et 2,0 mg/kg/jour d'imidaclopride, ont été constatés respectivement des effets immuno-toxiques et une réduction de la production de sperme. De même, si une dose orale unique de 41 mg/kg d'imidaclopride engendre la mortalité chez les moineaux domestiques, une dose substantiellement inférieure (6 mg/kg) peut induire un comportement incoordonné et une incapacité à voler. Alors que l'imidaclopride est très toxique pour la caille japonaise avec une DL50 de 31 mg/kg, les doses chroniques quotidiennes de seulement 1 mg/kg/jour peuvent conduire à des anomalies testiculaires, des dommages à l'ADN chez les mâles, et une réduction de la taille de l'embryon quand les mâles sont accouplés avec des femelles de contrôle. La grenouille foncée tachetée (*Pelophylax nigromaculatus*) a une CL50 de 129 à 219 mg/L d'imidaclopride, mais les dommages à l'ADN se produisent à une concentration beaucoup plus faible, de 0,05 mg/L. Compte tenu de la forte toxicité du fipronil pour les poissons, il n'est peut-être pas surprenant que la concentration la plus basse enregistrée de l'insecticide ayant un effet sur un vertébré soit de 0,0002 mg/L (0,2 µg/L) ; l'effet étant des dommages érythrocytaires chez le poisson Rhamdia quelen. Bien qu'il soit difficile d'extrapoler ces effets sur des organes à des mesures liées à la condition physique chez les individus et à des réponses au niveau de la population, ils permettent de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent la toxicité directe potentielle.

Les différentes familles de pesticides provoquent rarement des effets sublétaux à des doses inférieures à un dixième de la dose létale (Callahan et Mineau, 2008). Mais, dans le cas de l'imidaclopride, des signes d'un affaiblissement sévère (par exemple l'ataxie) ont été observés à des ordres de magnitude inférieurs aux doses létales. L'examen des données de laboratoire disponibles ici suggère que certains effets peuvent être détectés à des doses encore plus faibles (1/1000). Cette fonction apparente de ces insecticides est donc une préoccupation toxicologique à l'égard des vertébrés, accroissant la probabilité que les espèces sauvages soient affectées dans des conditions d'exposition réalistes.

Les vertébrés ont-ils un risque dans leur milieu naturel ?

Les risques pour les vertébrés aquatiques

Différentes concentrations environnementales mesurées ou estimées d'imidaclopride, de clothianidine, et de fipronil dans le milieu aquatique sont disponibles. Pour l'imidiaclopride, il s'agit notamment de 0 à 0,22 mg/L (Lamers et al., 2011) ; valeurs moyennes et maximales de 0,016 et 0,27 mg/L, respectivement (Main et al. 2014) ; 0,13-0,14 mg/L (Stoughton et al. 2008) ; 0 à 3,3 mg/L (Starner et Goh 2012) ; 1-14 mg/L (Jemec et al. 2007) ; <15 mg/L (Kreuger et al. 2010) ; 17-36 mg/L (Fossen 2006) ; et jusqu'à 49 mg/L (Hayasaka et al. 2012). Des concentrations plus élevées d'imidaclopride ont été plus rarement enregistrées dans l'environnement aquatique. Dans une étude aux Pays-Bas, tandis que 98% des 1 465 mesures variaient de 0 à 8,1 mg/L, les 2% restantes étaient plus élevées, 320 mg/L (Van Dijk et al. 2013). De même, dans une étude dans les rizières expérimentales, la concentration de l'imidaclopride immédiatement après l'application était de 240 mg/L, mais elle est tombée à 5 µg/L après une semaine (Sánchez-Bayo et Goka 2005). Pour la clothianidine, DeCant et Barrett (2010) ont estimé les concentrations de 0,5-3,0 mg/L pour l'eau environnante de deux cultures, tandis que Main et al. (2014) ont mesuré les concentrations moyennes et maximales de 0,14 et 3,1 mg/L, respectivement, dans les plans d'eau à côté de champs de colza. Les mesures pour le fipronil dans l'environnement aquatique ont été signalées à 0,17 mg/L (Stark et Vargas, 2005) ; à une moyenne de 0,23 et dans une gamme de 0,004 à 6,4 mg/L (Mize et al. 2008) ; 1 µg/L (Hayasaka et al. 2012) ; et de 0,15 à 5 mg/L (Wirth et al. 2004).

Les mesures de CL50 d'imidaclopride pour les poissons et les amphibiens (tableau 1) vont de 1200 à 366 000 mg/L, et pour la clothianidine, (seulement pour le poisson) de 94 000 à 117 000 mg/L. Ainsi, sauf dans les cas les plus extrêmes, dans la mesure où les concentrations environnementales sont d'environ 2 à 7 ordres de grandeur plus faibles que les mesures de la CL50 pour les poissons et les amphibiens, il est donc peu probable que les taux de mortalité de ces taxons soient directement affectés par ces deux insecticides en cas d'exposition normale. Cependant, la possibilité d'effets sublétaux, par exemple le stress physiologique et les dommages à l'ADN, ne peuvent pas être exclus (tableau 2). Pour le fipronil, il existe un risque apparemment supérieur pour la survie des poissons, puisque certaines des concentrations environnementales les plus élevées sont dans un ordre de grandeur des valeurs de la CL50 (tableau 1), en particulier pour le crapet arlequin (Lepomis macrochirus) et le tilapia du Nil. Les défauts sur des organes peuvent également être apparents, par exemple, des dégâts sur les érythrocytes et des altérations de la transcription du gène (tableau 2).

Les risques pour les vertébrés terrestres

Déterminer les risques d'exposition pour les vertébrés terrestres est plus complexe que pour les espèces aquatiques étant donné qu'il y a plusieurs voies de contamination, par exemple la contamination par l'ingestion de semences traitées, à partir des résidus dans ou sur les cultures et le sol, de l'eau de boisson, de la végétation ou des invertébrés à proximité ; à partir de l'exposition cutanée due à une pulvérisation directe ou par contact avec les surfaces traitées, par inhalation et même par le lissage des plumes. Les concentrations auxquelles les taxons terrestres peuvent être exposés varient considérablement au sein et entre ces différentes voies, sur la base des exigences pour l'habitat et du déplacement entre les parcelles contaminées et non contaminées.

Les semences traitées contiennent certaines des plus fortes concentrations de néonicotinoïdes, avec une plante type colza, les semences de betteraves ou de maïs calculées pour contenir respectivement 0,17 ; 0,9 ou 1 mg de principe actif (Goulson 2013). Les taux d'application varient considérablement selon les cultures : par exemple, les graines de colza traitées à la clothianidine reçoivent des taux d'application recommandés de 4,0 g ma/kg (ma = matière active) par graine de colza, alors que pour le maïs la dose est presque le double, à 7,5 g ma/kg de semences. Compte tenu de ces

concentrations élevées et du fait que de nombreuses espèces granivores mangent les semences, la voie la plus probable de l'exposition des animaux terrestres est sans doute la consommation de semences traitées.

Les résidus dans les cultures et le sol environnant peuvent être inférieurs, mais posent encore un risque pour les consommateurs de la faune qui se nourrissent sur les plantes traitées ou en ingérant de la terre. Par exemple, Bonmatin et al. (2005) ont trouvé des résidus de 2.1 à 6.6 mg/kg d'imidaclopride dans des plants de maïs issus de semences traitées. Des concentrations beaucoup plus élevées de 1,0 à 12,4 mg/kg d'imidaclopride ont été détectées dans les feuilles de betterave à sucre (Rouchaud et al. 1994). Les espèces souterraines peuvent également être exposées par le sol. Anon (cité dans Goulson 2013) a trouvé des concentrations de 18-60 mg/kg d'imidaclopride dans le sol après plusieurs années d'applications répétées de semences de blé d'hiver traitées. Donnarumma et al. (2011) ont mesuré des concentrations de 652 µg/kg d'imidaclopride dans le sol 30 jours après le semis de semences de maïs traitées, pour tomber à 11 µg/kg à la récolte. À la suite de trempage du sol (c'est à dire l'application d'un insecticide dilué directement à la base des plantes), Cowles et al. (2006) ont observé des concentrations de 120-220 mg/kg d'imidaclopride dans les tissus de la pruche, Tsuga canadensis. Cutler et Scott-Dupree (2007) ont trouvé des résidus de 0,5 à 2,6 mg/kg de clothianidine dans les semences traitées de colza, tandis que Krupke et al. (2012) ont trouvé des résidus de 1-9 µg/kg de clothianidine sur la végétation naturelle entourant des champs de maïs issus de semences traitées. Krupke et al. (2012) ont également détecté des concentrations de 6,3 mg/kg de clothianidine dans le sol de champs ensemencés avec des semences traitées de maïs.

L'EPA a modélisé la dose journalière estimée de clothianidine consommée, en supposant que les mammifères et les oiseaux ne mangent qu'une alimentation de semences traitées (DeCant et Barrett 2010). Cette approche de modélisation du risque a montré que la clothianidine, au moins quand elle est utilisée pour traiter les graines oléagineuses et de coton, pourrait réduire la survie des petits oiseaux et des mammifères (DeCant et Barrett 2010).

Des approches similaires ont été développées pour des voies d'exposition autres que l'ingestion de semences traitées (comme SERA 2005 ; US EPA 2012). Par exemple, la modélisation des risques pour l'imidaclopride suggère des risques pour les oiseaux et les mammifères consommant des végétaux, de l'herbe et même des insectes. En particulier, elle prévoit que la pulvérisation foliaire peut conduire à une mortalité importante des espèces d'oiseaux sensibles (SERA 2005). Dans sa réévaluation de l'imidaclopride, l'US EPA (2008) a rapporté un incident où les larves de surface après un traitement de pelouse, semblent avoir empoisonné les jeunes Merles migrateurs, Turdus migratorius.

Une évaluation plus détaillée du risque d'intoxication des oiseaux suite à la consommation de graines traitées aux néonicotinoïdes est donnée par Mineau et Palmer (2013). Leur analyse suggère que les risques d'intoxication aiguë à l'imidaclopride appliquée sur le maïs, sur des oléagineux ou des céréales sont relativement élevés : l'ingestion de quelques semences traitées suffit. Le risque d'intoxication aiguë à la clothianidine dans le maïs est le plus élevé, alors que pour les oléagineux et les céréales, les oiseaux auraient besoin d'en ingérer plus, en grande partie parce que les doses sont plus faibles. En principe, il existe des pratiques grâce auxquelles ce risque pourrait être atténué, par exemple en enterrant les graines en dessous de la surface du sol, mais cette solution est rarement efficace à 100% en raison du déversement (de Leeuw et al. 1995 ; Pascual et al. 1999). La question de savoir si oui ou non les oiseaux évitent de manger les semences traitées (Avery et al. 1998), ou dans quelle mesure ils peuvent retirer une partie importante de la substance toxique en écartant les enveloppes extérieures des graines (Avery et al. 1997) a été débattue. Cependant, les cas d'intoxication d'oiseaux avec des semences traitées à l'imidaclopride ont été documentés (Berny et al. 1999), ce qui laisse penser que le risque calculé peut être réel.

Le risque potentiel pour les oiseaux de manger les graines traitées aux néonicotinoides peut être illustré par l'exemple suivant dans lequel nous calculons le risque relatif pour deux espèces granivores, l'une, la perdrix grise, Perdix perdix (masse ~ 390 g) et l'autre, le moineau domestique (masse ~ 34 g) (http://blx1.bto.org/birdfacts/results/ bob3670.htm), lors de l'alimentation dans un champ récemment semé de graines de betterave traitées à l'imidaclopride, chaque graine contenant 0,9 mg d'imidaclopride (Anon 2012). L'imidaclopride est très toxique pour les deux espèces, avec une DL50 de 13,9 mg/kg de poids corporel pour la Perdrix grise et 41 mg/kg pour le moineau domestique (tableau 1). Par conséquent, l'ingestion de seulement 6 et 1,5 graines aurait une chance de tuer respectivement un perdreau et un moineau à la recherche de nourriture. Moins d'un quart d'une graine pourrait avoir un effet sublétal sur un moineau domestique, comme 6 mg/kg sont suffisants pour réduire la capacité de vol (tableau 2; Cox 2001). Bien que de Leeuw et al. (1995) suggèrent que seulement 0,17% des semences de betterave restent sur la surface du sol après le semis, au taux maximum de 130 000 graines par hectare semé (Anon 2012), entre 6 et 1,5 graines seraient trouvées à la surface dans les zones d'environ 270 à 70 m^2, respectivement, bien inclus à l'intérieur des secteurs d'alimentation quotidienne exploités de chaque espèce. Les zones de semences accidentellement renversées pourraient contenir des densités beaucoup plus élevées. Bien que les perdrix et les moineaux puissent éviter les semences traitées (i.e. les enrobages de semences aux couleurs vives peuvent conduire les oiseaux à les éviter si elles représentent une source de nourriture inconnue), ces calculs suggèrent qu'il existe un risque potentiel que les graines traitées à l'imidaclopride affectent des oiseaux d'espèces sensibles, conformément aux conclusions tirées par DeCant et Barrett (2010), Mineau et Palmer (2013) et Goulson (2013). Une observation anecdotique de merles et de moineaux se nourrissant dans les champs fraîchement ensemencés avec des semences traitées aux néonicotinoïdes donne à penser que les risques calculés sont plausibles (C. Morrissey observation personnelle).

Les effets indirects des pesticides sur la faune vertébrée

Bien que rarement pris en compte dans l'évaluation des risques écologiques, les inquiétudes sur les impacts de l'utilisation des pesticides sur les vertébrés se sont plus récemment tournées vers le potentiel global des effets indirects (Sotherton et la Hollande 2002 ; Boatman et al. 2004). Les observations du déclin des oiseaux des terres agricoles et des pâturages et les contractions de gamme sont bien corrélées avec l'intensification agricole, y compris l'augmentation d'utilisation des pesticides (Chamberlain et al. 2000 ; Morris et al. 2005 ; Ghilain et Bélisle 2008 ; Robillard et al. 2013 ; Mineau et Whiteside 2013). Tennekes (2010) et Mason et al. (2012) ont récemment suggéré, mais avec peu de preuves à l'appui, que les insecticides néonicotinoïdes peuvent contribuer respectivement au déclin des oiseaux insectivores en Europe, des poissons, des amphibiens, des chauves-souris et des oiseaux dans le monde. Tennekes (2010) a émis l'hypothèse que les néonicotinoïdes agissent indirectement sur les populations d'oiseaux, en réduisant l'abondance des insectes proies. Mason et al. (2012) ont suggéré que les néonicotinoïdes supprime le système immunitaire des vertébrés (et des invertébrés) ce qui les rend plus vulnérables aux maladies infectieuses et autres facteurs de stress.

Les effets indirects des pesticides sur les vertébrés résultent le plus couramment de l'une des trois voies suivantes : (1) pour les granivores des réductions de graines végétales en raison des applications d'herbicides (Ex. : Gibbons et al 2006), (2) pour les oiseaux insectes-dépendants et les insectes dépendants des plantes, de la perte de plantes hôtes en raison des applications d'herbicides et des

impacts secondaires, (par exemple Potts 1986), ou encore (3) pour les insectivores de la réduction des arthropodes-proies consécutive aux applications d'insecticides ou de fongicides ayant des propriétés insecticides (par exemple, Martin et al. 2000 ; Morris et al. 2005 ; Poulin et al. 2010).

Les effets indirects sont par nature difficiles à mesurer et souffrent fréquemment de limites d'inférences corrélatives. Boatman et al. (2004) ont mis en évidence trois critères pour déduire définitivement un lien de causalité entre les pesticides et leurs actions indirectes sur la faune des vertébrés. Des études concluantes devraient documenter les effets négatifs sur (1) la qualité des aliments et leur quantité, (2) la reproduction, l'état ou la survie des vertébrés consommateurs et (3) concomitamment le déclin des populations de vertébrés. Le seul cas documenté où les effets indirects ont été définitivement présentés en utilisant l'ensemble de ces critères dans une expérience de terrain entièrement répliquée concerne la Perdrix grise en Grande-Bretagne (Rands 1985) après plusieurs décennies d'étude intensive. La modélisation des populations a montré que le déclin des populations de perdrix grises pouvait être entièrement expliqué par les réductions de disponibilité en proies en tandem avec une croissance réduite et la diminution de la survie des poussins induites par les herbicides (examiné par Potts, 1986). D'autres études ont cependant mis au jour des effets constants sur un ou plusieurs de ces trois critères, ce qui suggère que les effets indirects des pesticides peuvent être plus répandus que documenté dans la littérature.

Les études rapportant les effets sur les consommateurs de la réduction des ressources alimentaires.

Les applications de pesticides dans les régions tempérées se chevauchent directement avec la production saisonnière des invertébrés et la saison de reproduction de nombreuses espèces de vertébrés. L'approvisionnement alimentaire (c-à-d l'abondance et la disponibilité) est largement reconnue comme affectant la sélection de l'habitat, le succès de la reproduction et la survie chez les vertébrés, avec des preuves conséquentes à l'appui pour les oiseaux en particulier (Simons et Martin, 1990 ; Johansson et Blomqvist 1996 ; Brickle et al. 2000 ; Moller 2001; Hole et al. 2002 ; Nagy et Holmes 2004, 2005 ; Boatman et al. 2004 ; Morris et al. 2005 ; Britschgi et al. 2006 ; Hart et al. 2006 ; Zanette et al. 2006 ; Golawski et Meissner 2008 ; Selas et al. 2008 ; Dunn et al. 2010 ; Poulin et al. 2010). À travers toute l'Europe et l'Amérique du Nord, les baisses dramatiques et les plus répandues ont été observées dans les populations d'oiseaux associées aux habitats agricoles et aux zones humides agricoles (Beauchamp et al. 1996 ; Donald et al. 2001 ; Benton et al. 2002 ; Boatman et al. 2004), l'abondance des arthropodes montrant des tendances similaires (Benton et al. 2002). Au Canada et aux États-Unis, cependant, la disparition des espèces a été plus fortement corrélée avec l'utilisation des pesticides qu'avec l'agriculture ou les mesures d'intensification seules (Gibbs et al 2009 ; Mineau et Whiteside 2013).

Les réductions de l'abondance de ressources en invertébrés causées par l'utilisation des insecticides ont été liées à la réduction du succès de la reproduction chez au moins quatre passereaux des terres agricoles au Royaume-Uni : bruant proyer (Miliaria Calandra), bruant jaune (Emberiza citrinella), tarier des prés (Saxicola rubetra), et bruant des roseaux (Emberiza schoeniclus) (Brickle et al. 2000 ; Brickle et Peach 2004 ; Morris et al. 2005 ; Hart et al. 2006 ; Dunn et al. 2010 ; mais voir Bradbury et al. 2000, 2003). Bien que le déclin des populations d'oiseaux au Royaume-Uni ait coïncidé avec les pertes d'invertébrés, des changements dans l'abondance des invertébrés ne suffisent pas à expliquer les tendances des populations de ces espèces. En fait, le succès de la nidification de ces espèces a augmenté au cours des périodes où les populations ont décliné (Siriwardena et al. 2000). Le déclin des populations de granivores a été plutôt lié à une réduction de la survie hivernale, probablement en conséquence d'une réduction de la disponibilité en graines (Siriwardena et al. 2000 ; Butler et al. 2010).

Les effets indirects des néonicotinoïdes et du fipronil

Nous avons trouvé seulement six études qui ont examiné les effets indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés (Tableau 3). Toutes étaient des études de terrain plutôt que de laboratoire. Parmi ces études, on a trouvé un effet indirect bénéfique. Les femelles d'écureuil terrestre du Cap, Xerus inauris, ont bénéficié de l'élimination des ectoparasites par le fipronil et ont eu un succès de reproduction quatre fois plus élevé (Hillegass et al. 2010). Un certain nombre d'études ont montré que la réduction du parasitisme peut améliorer le succès de reproduction des vertébrés (par exemple, Hudson et al. 1992). Toutefois, l'interprétation de l'effet du fipronil n'était pas simple car, les endoparasites ayant été éliminés simultanément avec de l'ivermectine, les chercheurs n'ont pu distinguer les effets respectifs des deux produits.

Dans deux autres études de terrain, toutes deux dans les rizières expérimentales, l'imidaclopride et/ou le fipronil a été appliqué à des taux commerciaux recommandés. Alors qu'une étude ne trouve aucun effet du fipronil sur la croissance ou la survie des carpes japonaises (Cyprinus carpio) (Clasen et al. 2012), l'autre a constaté que les applications d'imidaclopride et de fipronil réduisent la croissance à la fois les poissons adultes et des alevins Médaka (Oryzias latipes) (Hayasaka et al. 2012). Hayasaka et al. (2012) suggèrent que c'est probablement un effet indirect résultant d'une réduction de l'abondance des proies Médaka. Les concentrations étaient probablement trop faibles (Approximativement 0,001 à 0,05 mg/L) pour exercer un effet toxique direct sur les Médakas mais étaient cependant supposées suffisamment élevées pour réduire l'abondance de leurs proies invertébrées.

Les études au niveau de la population investiguant les impacts indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur les espèces de vertébrés sont rares. Seules trois de ces études ont été trouvées lors de cet examen et toutes concernaient des populations locales plutôt que nationales ou régionales (tableau 3). Toutes étaient des études de terrain concernant soit l'imidaclopride soit le fipronil appliqué aux taux commerciaux recommandés en pulvérisation ou trempage du sol plutôt qu'en traitement des semences.

Falcone et DeWald (2010) ont étudié l'impact d'une seule application de trempage du sol avec l'imidaclopride sur la pruche du Canada, *Tsuga canadensis*, dans le cadre d'une campagne visant à réduire la population de cet insecte ravageur exotique. Alors que le trempage du sol n'a (étonnamment) pas d'impact sur un ravageur, le puceron laineux (*Adelges tsugae*), les populations d'hémiptères et des lépidoptères non-cibles se sont trouvées réduites. Bien que les larves de lépidoptères soient importantes dans le régime alimentaire de trois espèces d'oiseaux insectivores migrateurs néotropicaux, les populations d'oiseaux n'ont pas été affectées l'année suivante. Norelius et Lockwood (1999) ont mené une étude similaire, cette fois en pulvérisant du fipronil pour contrôler une infestation de sauterelles. Alors que le nombre de criquets a été nettement réduit, les populations d'oiseaux insectivores des prairies qui consomment fréquemment les sauterelles étaient un peu, mais pas de façon significative, réduites un mois après la pulvérisation. L'absence d'effets clairs au niveau de la population dans ces deux études pourrait être liée à des oiseaux en quête de nourriture, par phénomène de compensation, en dehors des zones traitées, même si cela semble peu probable, au moins pour l'étude Norelius et Lockwood (1999), les domaines vitaux des oiseaux étudiés (quelques hectares) étant de petite taille par rapport à la superficie totale traitée (quelques centaines d'hectares). Sinon, les effets au niveau de la population auraient pu être masqués dans ces essais de terrain à petite échelle si les oiseaux avaient immigré dans les parcelles traitées à partir des zones non traitées alentour. Aucune de ces études cependant n'a

mesuré le succès de reproduction ou les impacts sur la survie des poussins qui peuvent être plus plausibles que les effets sur la survie des adultes.

En revanche, Peveling et al. (2003) ont documenté la façon dont la pulvérisation de fipronil pour contrôler une invasion de criquets migrateurs à Madagascar a divisé par deux la population de la Termite batteuse, *Coarctotermes clepsydre*. En conséquence, les populations de deux espèces de reptiles, l'iguane de Madagascar (*Chalarodon madagascariensis*), et un scinque (*Mabuy elegans*), ont diminué, car les termites constituent une partie importante du régime alimentaire de ces deux espèces, tandis que le hérisson tangue *Echinops telfairi* peut aussi avoir été affecté. À ce jour, c'est la seule étude qui ait démontré un impact d'un insecticide systémique au niveau de la population sur une population de vertébrés où l'effet a été exercé indirectement par le biais de la chaîne alimentaire. Bien que Tingle et al. (2003) signalent que l'étude sur la pulvérisation de fipronil pour la lutte antiacridienne à Madagascar peut avoir causé des baisses de populations de deux espèces d'oiseaux, le Guêpier de Madagascar (*Merops superciliosus*), et le Faucon crécerelle de Madagascar (*Falco newtoni*), (mais sans effet sur deux autres oiseaux : l'Alouette de Madagascar (*Mirafra hova*) et la cisticole de Madagascar (*Cisticola cherina*), la taille de l'échantillon était cependant trop petite pour que l'étude soit concluante, car il n'était pas possible de distinguer entre les effets directs et indirects.

Bien qu'il soit possible d'utiliser des études de toxicité en laboratoire pour informer les modèles sur les effets indirects d'un pesticide sur les populations de vertébrés, ces modèles sont très exigeants sur les données et les études de cas sont rares (voir par exemple Watkinson et al. 2000). Les insecticides systémiques sont connus pour affecter les populations d'invertébrés (par exemple Whitehorn et al. 2012 ; Van Dijk et al. 2013), mais, d'une part, le manque de preuves, et, d'autre part, les difficultés à les déterminer, font que les effets indirects comparables sur les vertébrés demeurent une question en écotoxicologie. Déterminer si un lien de causalité existe entre la perte de proie en insectes en raison de l'utilisation de pesticides et le déclin des populations de vertébrés demeure une nécessité essentielle. C'est particulièrement vrai en Amérique du Nord et en Europe où les néonicotinoïdes sont utilisés en grandes quantités et sur de vastes zones.

Conclusions

Les insecticides néonicotinoïdes et le fipronil peuvent exercer leurs impacts sur les vertébrés soit directement, par leur toxicité manifeste, soit indirectement, par exemple en réduisant leur approvisionnement alimentaire. Il existe des variations marquées de toxicité aiguë entre les taxons et les différents insecticides systémiques (telles que celles mesurées par DL50 et CL50), tandis que toute une gamme d'effets sublétaux peut se manifester à des concentrations d'ordres de grandeur inférieurs à ceux provoquant la létalité. Dans l'ensemble, à des concentrations pertinentes de scénarios d'exposition de terrain à semences traitées (oiseaux) ou des concentrations dans l'eau (poissons), l'imidaclopride et la clothianidine peuvent être considérés comme un risque pour les espèces d'oiseaux granivores, tandis que le fipronil peut présenter un risque similaire pour les espèces de poissons sensibles. Sauf dans les cas les plus extrêmes, cependant, les concentrations d'imidaclopride et la clothianidine auxquelles les poissons et les amphibiens sont exposés semblent être sensiblement en dessous des seuils pouvant causer la mort, bien que les effets sublétaux n'aient pas été suffisamment étudiés.

Malgré l'absence de recherche et la difficulté à attribuer une causalité, les effets indirects peuvent être importants, voire plus importants, que les effets toxiques directs sur les vertébrés, étant donné que les insecticides systémiques modernes sont plus efficaces pour tuer les proies invertébrées que les vertébrés. Compte tenu des données présentées ici, les procédures d'évaluation des risques actuels pour les néonicotinoïdes et les autres pesticides systémiques doivent prendre en considération les risques associés à partir des effets directs et indirects sur la faune des vertébrés.

Traduction, Christian Pacteau
Relecture, Martine Prodhomme