



METHODOLOGIE DE NOTATION DES MOLECULES DE L'OUTIL TOXIBEES

L'objectif est de caractériser les différentes interactions et effets des substances actives utilisées en agriculture sur les abeilles et pollinisateurs.

Nous tentons de prendre en compte toutes les voies d'exposition possibles des différents pollinisateurs, en comptabilisant non seulement les effets des doses aiguës et chroniques, mais également les effets sublétaux, les interactions entre ces molécules, le devenir et le comportement de chaque substance dans l'environnement.

L'approche générale

Pour classer les molécules selon leur toxicité vis-à-vis de l'environnement et les pollinisateurs, nous avons opté pour une méthodologie basée sur un système de notation de quelques propriétés physico-chimiques et écotoxicologiques de chaque substance active. Le classement est effectué pour toutes les substances approuvées à l'échelle nationale et européenne, dont la dernière actualisation d'approbation est consultée le 13/05/2019 sur la base de données « UE database pesticides ». Quelques substances non approuvées, connues pour leurs effets toxiques pour l'abeille et l'environnement sont incluses dans l'évaluation, afin de vérifier la fiabilité de notre système de notation (molécules repères) : le fipronil, l'imidaclopride, le thiaméthoxame, le clothianidine, le diazinon et la perméthrine.

Nous tenons compte de deux composantes pour l'évaluation des risques écotoxicologiques des pesticides pour les abeilles :

- 1- L'évaluation du danger en définissant la toxicité lors des essais d'écotoxicité au laboratoire et au champ
- 2- L'évaluation de l'exposition qui implique, entre autre, de caractériser le devenir et le comportement des substances actives dans l'environnement (ANSES, 2018). Elle implique aussi de connaître la dose que pourrait recevoir les abeilles lors des traitements (exposition aiguë) et les niveaux de contamination des matrices alimentaires (eau, exsudats, miel et pollen). La contamination chronique par contact avec les parties des plantes contaminées n'est pas approchée (le test de toxicité tarsale n'est plus utilisé).

Quelles sont les propriétés physico-chimiques et écotoxicologiques prises en compte et pourquoi ?

Les propriétés physico-chimiques (Evaluation de l'exposition)

Les propriétés évaluées sont la systémie, la dégradation dans le sol (DT90), l'hydrolyse, la photolyse et la bioconcentration. Tous ces paramètres sont des données intrinsèques aux substances et influencent le niveau d'exposition et les voies d'exposition pour les pollinisateurs aux produits phytopharmaceutiques (PPP). Les vecteurs de contamination sont les particules dans l'air (poussière et aérosol), le nectar, le pollen, le sol, la cire, l'eau, la guttation et les plantes (Boyle et al., 2019). Plusieurs auteurs ont rapporté sur la contamination de ces voies d'expositions notamment, la systémie de certains pesticides, qui est à l'origine de la contamination du pollen et du nectar (Krupke et al., 2012), l'exsudation et la rosée du matin qui sont les principales sources d'eau pour les insectes et qui peuvent être contaminées par les exsudats de guttation (Girolami et al., 2009), la contamination des sols par les pesticides qui est susceptible d'affecter les différentes espèces d'abeilles sociales et les abeilles solitaires qui nichent dans le sol (Krupke et al., 2012), la poussière libérée via les semoirs pneumatiques à l'usage des semences enrobées peut se mettre en contact avec les pollinisateurs en plein vol (Girolami et al., 2012). En outre la persistance et la capacité de bioconcentration des pesticides dans les organismes, en raison de leur caractère lipophile et leur incorporation dans la chaîne alimentaire de l'écosystème (bioaccumulation), ont entraîné une large distribution dans l'environnement (Kent and Johnson, 1979).

Les propriétés écotoxicologiques (Evaluation du danger)

Une littérature scientifique abondante critique le système actuel d'évaluation des risques pour les abeilles, qui est basé sur la seule toxicité aiguë des produits chimiques, que ce soit par une exposition de contact ou orale, en 24 ou 48 heures (Decourtye et al., 2005; Sanchez-Bayo and Goka, 2014). Plusieurs études (Decourtye et al., 2005; Gill et al., 2012; Sanchez-Bayo and Goka, 2014; Simon-Delso et al., 2012) soulignent l'importance des recommandations récentes sur les produits phytopharmaceutiques et leurs résidus auprès de l'EFSA à savoir de prendre en compte, en complément des données de toxicité aiguë, les données de toxicité chronique (à long-terme) et les effets sublétaux sur adultes et larves. De plus, l'impact des mélanges de pesticides avec lesquels les abeilles entrent en contact simultanément doit être mesuré pour comprendre le risque pour les abeilles dans leur environnement réel (Tosi et al., 2018) bien que ces données soient encore rarement générées. La méthodologie utilisée dans toxibeas est donc en ce sens la méthodologie la plus fiable disponible puisqu'elle prend en compte l'intégralité des données scientifiques et réglementaires recommandées.

Les paramètres qui semblent les plus pertinents pour les scientifiques, afin de couvrir le maximum possible les risques auxquels les pollinisateurs sont exposés, sont la toxicité aiguë pour les abeilles et les autres pollinisateurs (DL50 par voie orale et DL50

par voie contact) à différents stade de développement (adulte et larvaire) , la toxicité dite chronique par une exposition continue, les effets délétères, le risque d'exposition à plusieurs pesticides ainsi que leur interactions et l'effet de l'application du même pesticide sur différentes cultures (Gill et al., 2012; Khoury et al., 2011; Simon-Delso et al., 2012). Pour ces raisons, nous avons focalisé dans notre évaluation sur les toxicités aiguë, chronique, les effets sublétaux et synergiques entre les molécules, que ces dernières soient de la même famille ou pas.

D'où viennent les données utilisées ?

Les données sur les propriétés physico-chimiques, proviennent de la base de données PPDB (Pesticides Proprietes DataBase), l'Agence Européenne des Produits chimiques (ECHA), les fiches de données de sécurité des substances et le DAR (Draft Assessment Report) de l'EFSA (European Food Safety Authority). La PPDB classe chaque propriété d'une substance, selon son niveau de danger (toxicité) (faible, moyen ou élevé), c'est une ressource fiable. La toxicité aiguë (par voie orale et par voie de contact) sur pollinisateurs est disponible pour la majorité des pesticides sous forme de doses létales médianes (DL50) ou de concentrations létales médianes (CL50). Ces données sont extraites de plusieurs sources, principalement de la base PPDB. Dans le cas où l'information est indisponible sur cette base, d'autres sources sont consultées, notamment le manuel de pesticides (Tomlin, 2009), de la base de données US EPA (Environmental Protection Agency), AgriTox de l'ANSES (l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) en France, EU Pesticides database de la commission européenne et les rapports de l'EFSA. Enfin, la littérature scientifique a également été consultée (principalement Bibliovie, Titane science et Medline). Il convient de noter que lorsque plus d'une valeur de DL50 orale ou par contact sont disponibles, à validité de protocole égale, on retient celle qui est la plus faible (donc qui caractérise la toxicité la plus forte) pour les pollinisateurs.

La toxicité chronique, les effets sublétaux ainsi que la synergie sont des informations en général peu documentées par les études réglementaires alors même qu'elles sont essentielles pour caractériser avec précision la toxicité des molécules sur les abeilles. Nous avons dû les collecter dans la littérature scientifique (publications, livres, thèses...).

Le système de notation établi par le Comité Scientifique

Les propriétés physico-chimiques sont notées de 1 à 5 : plus le comportement dans l'environnement présente un risque de contamination, plus la note tend vers 5 et vice-versa (tableau 1). Ce système de notation est inspiré de celui de la base PPDB, qui a été mise au point par l'unité de recherche sur l'agriculture et l'environnement (AERU) de l'Université de Hertfordshire à l'intention de divers utilisateurs finaux, afin de soutenir les évaluations et la gestion des risques des pesticides. Après plusieurs tests et simulations sur les différentes molécules nous avons élaboré un barème appliqué pour toutes les molécules (Tableaux 1 et 2). Dans le cas de certaines propriétés pour lesquelles les informations sont manquantes, une moyenne de la note a été établie ((le risque le plus élevé + le risque le plus faible) /2). A noter qu'une notation particulière a été appliquée pour les molécules de biocontrôle pour lesquelles les données physico-chimiques sont souvent non-pertinentes pour caractériser les risques. Pour ces molécules, la note attribuée est de 1.

La toxicité aiguë par voie orale et topique, la toxicité chronique, les effets sublétaux et la synergie sont également notées de 1 à 5 en fonction des seuils définis dans le tableau ci-dessous. Si au moins une étude a démontré la présence de l'un de ces effets sur au moins une espèce de pollinisateur avec un niveau d'exposition environnemental (c'est-à-dire réaliste), la note attribuée est de 5. Dans le cas où l'information écotoxicologique est non disponible ou si la molécule n'est pas encore évaluée, pour les insecticides et molécules présentant au moins une preuve de toxicité de niveau moyen à supérieur, une note de 3 (note moyenne) est introduite par principe de précaution pour ne pas pénaliser les substances dont les données ne sont pas disponibles. On notera que l'on applique ici à la toxicologie environnementale ce qu'on fait en routine en analytique lorsque des valeurs sont indéterminées (entre la limite de détection et la limite de quantification). Pour les molécules dont la toxicité n'est pas avérée ni suspectée (certains herbicides et fongicides, molécules de biocontrôle) pour lesquelles l'information est manquante, la note introduite est 2.

Concernant la systémie, si la substance est systémique la note est de 5 ; si la substance est non systémique, la note est de 0. La note de 5 correspond à un malus lorsque la systémie est prouvée. La notion de systémie doit être considérée avec discernement. Selon la définition habituelle, une substance est considérée comme systémique si elle pénètre dans un organisme et s'y distribue. Pour les plantes, le caractère systémique est fortement lié à la solubilité dans l'eau de la substance. Toutefois, une notion relative de la systémie pourrait être envisagée, voire même se substituer à la notion absolue. En effet, une substance comme le fipronil n'est pas considérée comme systémique. Sa solubilité dans l'eau est faible et se situe autour de 3,78 mg/L (ANSES 2005). Cependant, cette substance a été utilisée en enrobage de semences pour protéger non seulement la semence contre les ravageurs du sol (i.e. le taupin) mais aussi la plante contre des ravageurs tels que le puceron. Les résidus de fipronil dans la plante sont de l'ordre du microgramme par kilogramme, ou inférieurs, alors que la plante est protégée contre les ravageurs. Ainsi, il



est possible de dire qu'une substance phytopharmaceutique est systémique si elle pénètre dans la plante et s'y distribue à des concentrations efficaces contre les ravageurs, quelles que soient ces concentrations. De ce fait, la systémie n'est plus une notion ou une définition absolue, mais une notion relative qui dépend bien sûr de la concentration de la substance dans la plante mais aussi du niveau de concentration à partir duquel la substance peut agir sur des organismes cibles ou non cibles comme les pollinisateurs.

Tableaux 1 et 2 : système de notation des propriétés physico-chimiques et écotoxicologiques

Propriétés physico-chimiques	Barème (points)	Note
Systémie	Systémique	5
	Non systémique	0
Solubilité dans l'eau mg/L	< 1	1
	1 à 10	2
	10 à 100 ou pas d'information	3
	100 à 1000	4
	>1000	5
Dégradation dans le sol (jours) DT90	<20	1
	20 à 60	2
	60 à 100 ou pas d'information	3
	100 à 300	4
	>300	5
Dégradation par hydrolyse (jours) (DT50)	<5	1
	5 à 10	2
	10 à 30 ou pas d'information	3
	30 à 80	4
	>80	5
Dégradation par photolyse (jours) (DT50)	<5	1
	5 à 10	2
	10 à 30 ou pas d'information	3
	30 à 80	4
	>80	5
Bioconcentration (L/Kg)	<20	1
	20 à 60	2
	60 à 100 ou pas d'information	3
	100 à 300	4
	>300	5
Propriétés écotoxicologiques	Barème (points)	Note
Toxicité abeille « orale » 48h, DL50 µg/abeille	>20	1
	20 à 2	2
	2 à 0,2 ou pas d'information	3
	0,2 à 0,02	4
	<0,02	5
Toxicité abeille « contact » 48h, DL50 µg/abeille	>20	1
	20 à 2	2
	2 à 0,2 ou pas d'information	3
	0,2 à 0,02	4
	<0,02	5
Au moins un effet subléta délétère caractérisé ou toxicité larvaire	Au moins une étude a démontré un effet subléta ou toxicité développementale	5
	Pas d'information	3
Synergie	Au moins une étude qui a démontré un effet synergique	5
	Aucune étude n'a démontré l'effet (pas d'information)	3



Bibliographie

ANSES (2018). AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

Bonmatin, J.M., Marchand, P.A., Charvet, R., Moineau, I., Bengsch, E.R., and Colin, M.E. (2005). Quantification of Imidacloprid Uptake in Maize Crops. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5336–5341.

Boyle, N.K., Pitts-Singer, T.L., Abbott, J., Alix, A., Cox-Foster, D.L., Hinarejos, S., Lehmann, D.M., Morandin, L., O'Neill, B., Raine, N.E., et al. (2019). Workshop on Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Non-Apis Bees: Foundation and Summaries. *Environ Entomol* 48, 4–11.

Chauzat, M.-P., Faucon, J.-P., Martel, A.-C., Lachaize, J., Cougoule, N., and Aubert, M. (2006). A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *J Econ Entomol* 99, 253–262.

Decourtye, A., Devillers, J., Genecque, E., Menach, K.L., Budzinski, H., Cluzeau, S., and Pham-Delègue, M.H. (2005). Comparative Sublethal Toxicity of Nine Pesticides on Olfactory Learning Performances of the Honeybee *Apis mellifera*. *Arch Environ Contam Toxicol* 48, 242–250.

Gill, R.J., Ramos-Rodriguez, O., and Raine, N.E. (2012). Combined pesticide exposure severely affects individual- and colony-level traits in bees. *Nature* 491, 105–108.

Girolami, V., Mazzon, L., Squartini, A., Mori, N., Marzaro, M., Di bernardo, A., Greatti, M., Giorio, C., and Tapparo, A. (2009). Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Guttation Drops: A Novel Way of Intoxication for Bees. *J Econ Entomol* 102, 1808–1815.

Girolami, V., Marzaro, M., Vivan, L., Mazzon, L., Greatti, M., Giorio, C., Marton, D., and Tapparo, A. (2012). Fatal powdering of bees in flight with particulates of neonicotinoids seed coating and humidity implication. *Journal of Applied Entomology* 136, 17–26.

Kent, J.C., and Johnson, D.W. (1979). Organochlorine residues in fish, water, and sediment of American Falls Reservoir, Idaho, 1974. *Pestic Monit J* 13, 28–34.

Khoury, D.S., Myerscough, M.R., and Barron, A.B. (2011). A Quantitative Model of Honey Bee Colony Population Dynamics. *PLOS ONE* 6, e18491.

Krupke, C.H., Greg J. Hunt, Eitzer, B.D., Andino, G., and Given, K. (2012). Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. *PLOS ONE* 7, e29268.

Sanchez-Bayo, F., and Goka, K. (2014). Pesticide Residues and Bees – A Risk Assessment. *PLOS ONE* 9, e94482.

Simon-Delso, N., Janine, K., Jose-Anne, L., and Mouret, C. (2012). Risk assessment of pesticides on bees: evaluating risk coefficients for assessing acute and chronic toxicity. 39.

Tomlin, C.D.S. (2009). The pesticide manual: A World compendium. *The Pesticide Manual: A World Compendium*.

Tosi, S., Costa, C., Vesco, U., Quaglia, G., and Guido, G. (2018). A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. *Science of The Total Environment* 615, 208–218.