

PAR COURRIEL

Le 3 mars 2023

DEMANDEUR

N/Réf. : 202302-02

Objet : Demande d'accès à l'information

Madame,

Nous donnons suite à votre demande d'accès à l'information reçue le 2 février 2023.

Point 1

La recherche a permis de repérer des documents visés par ce point de votre demande. Toutefois, nous vous informons que ces documents ne sont pas accessibles suivant l'alinéa 2 de l'article 9 de la Loi sur l'accès aux documents des organismes publics et sur la protection des renseignements personnels (RLRQ, c. A 2.1).

Point 2

La recherche a permis de repérer un document visé par ce point de votre demande. Celui-ci est accessible. Vous le trouverez ci-joint.

La recherche de documents concernant la réponse à cette demande a été faite en prenant en considération les différents secteurs d'activité faisant partie du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, tel qu'il était organisé avant les décrets gouvernementaux du 20 octobre 2022.

... verso

Nous vous indiquons que vous pouvez demander à la Commission d'accès à l'information de réviser cette décision. Vous trouverez ci-joint une note explicative concernant l'exercice de ce recours ainsi qu'une copie de l'article précité.

Veuillez agréer, Madame, l'expression de nos sentiments les meilleurs.

La responsable de l'accès à l'information,

Original signé par

Matilde Thérout-Lemay

p. j. 3

Veuillez prendre note qu'il s'agit d'un document de travail. Les démarches pour l'approbation, la mise en page et la révision linguistique n'ont pas été réalisées.

Les impacts directs, indirects et cumulatifs de l'utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)* et du *Lysinibacillus (Bacillus) sphaericus (Ls, Bsph)* pour le contrôle d'insectes piqueurs sur des espèces non ciblées, les réseaux trophiques et les écosystèmes

Revue de littérature

Bert Klein et Paula Cabrera

Secteur de la Faune et des Parcs

Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Québec

2021

Recherche, rédaction et coordination

Bert Klein, Service des territoires fauniques et des habitats (STFH), Direction de la conservation des habitats, des affaires législatives et des territoires fauniques (DCHALTF)

Paula Cabrera, Laboratoire de lutte biologique, Université du Québec à Montréal, Montréal

Collaboration

Francis Bourret, STFH, DCHALTF

Anaïs Courteille, Direction de la gestion de la faune, Outaouais

Meggie Desnoyers, STFH, DCHALTF

Nathalie Desrosiers, Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides, Direction de l'expertise sur la faune terrestre, l'herpétofaune et l'avifaune

Zara Dionne, STFH, DCHALTF

Étienne Drouin, Direction de la gestion de la faune Estrie, Montréal, Montérégie et Laval

Lila Gagnon-Brambilla et Justine Desmeules, Direction de la gestion de la faune de la Gaspésie-Îles-de-la-Madeleine

Marianne Thériage, Direction de la gestion de la faune Mauricie-Centre-du-Québec

Anne-Marie Turgeon, STFH, DCHALTF

Jolyane Roberge, STFH, DCHALTF

Révision scientifique

Émilie Bilodeau, Direction des matières dangereuses et des pesticides, ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC)

Mélanie Desrosiers et Gaëlle Triffault-Bouchet, Division Écotoxicologie et évaluation du risque, Direction des expertises et des études, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, MELCC

Andrée Gendron, Division recherche sur les contaminants aquatiques, Direction générale des sciences et technologies, Environnement et changements climatiques Canada (ECCC)

Isabelle Giroux, Direction de la qualité des milieux aquatiques, MELCC

Valérie Langlois et Molly Lefebvre, Centre Eau Terre Environnement, Institut national de la recherche scientifique

Brigitte Poulin, Département Écosystèmes, Tour de Valat, Le Sambuc, Arles, France

Jean Rodrigue et François Shaffer, Service canadien de la faune (SFC), ECCC

Les **commentaires** de ces personnes sur le contenu de cette revue de littérature ont permis d'améliorer la qualité :

Carsten Brühl, Ökotoxikologie und Umwelt, Universität Koblenz Landau, Landau, Deutschland

Michel Robert, SFC, ECCC

Jean-Louis Schwartz, Département de pharmacologie et physiologie, Faculté de médecine, Université de Montréal

Remerciements (à compléter, certaines des personnes énumérées ci-haut pourraient plutôt se retrouver dans cette section)

Nous tenons à remercier

Crédit photo, page couverture

James Gathany, Larves de moustiques du genre *Culex* (à venir)

Référence à citer :

Bert Klein et Paula Cabrera. 2020. Les impacts directs, indirects et cumulatifs de l'utilisation du *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) et du *Lysinibacillus (Bacillus) sphaericus* (Ls, Bsph) pour le contrôle d'insectes piqueurs sur des espèces non ciblées, les réseaux trophiques et les écosystèmes. Revue de littérature. Secteur de la Faune et des Parcs. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs. Québec. XX pages.

Pour plus de renseignements:

Coordination nationale aux habitats fauniques
Service des territoires fauniques et des habitats
Direction de la conservation des habitats, des affaires législatives et des territoires fauniques
Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs
880, chemin Sainte-Foy, 2e étage
Québec (Québec) G1S 4X4
Téléphone : 418 627-8691
Courriel : coordination.hafa@mffp.gouv.qc.ca
© Gouvernement du Québec, 2020

Avant-Propos

Cette revue de littérature a été conçue comme document pour l'utilisation interne au sein des secteurs de la Faune et des Parcs ainsi que des Opérations régionales du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP). Elle présente de l'information à jour, été 2020, et elle a été produite en lien avec l'« Orientation relative au contrôle des insectes piqueurs à l'aide du *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (Bti) et du *Bacillus sphaericus* (Bsph) » (version 2019) et l'« Orientation relative au contrôle des insectes piqueurs à l'aide du *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (Bti) et du *Lysinibacillus sphaericus* (Ls) » (version 2020) pour assister les biologistes dans les directions de la gestion de la faune des bureaux régionaux du ministère avec l'analyse des demandes d'avis fauniques (article 22 LQE) et d'autorisation (article 128.7 LCMVF) d'épandage de *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (Bti) et *Lysinibacillus sphaericus* (Ls; appelé jusqu'à récemment *Bacillus sphaericus*, Bsph), pour le contrôle des insectes piqueurs.

Le format « Nature » (numéro en exposant) pour les références bibliographiques est utilisé afin d'alléger le texte.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE EXÉCUTIF.....	7
LISTE DES ACRONYMES	12
1. INTRODUCTION	14
1.1. <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> ET <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> VARIÉTÉ <i>ISRAESENSIS</i>	14
1.2. <i>LYSINIBACILLUS SPHAERICUS</i>	22
1.3. HOMOLOGATION	23
1.4. LE <i>BTI</i> ET LES ORGANISMES NON CIBLÉS	23
1.5. LES INSECTES PIQUEURS ET LA SANTÉ PUBLIQUE AU QUÉBEC	28
1.6. OBJECTIF PRINCIPAL DE CETTE REVUE DE LITTÉRATURE	29
2. MÉTHODOLOGIE.....	29
3. FORMULATIONS DE <i>BTI</i> ET LS ET SYNERGIES AVEC AUTRES CONTAMINANTS	33
3.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	34
3.2. CONCLUSIONS	40
4. PERSISTANCE ET PROLIFÉRATION DU <i>BTI</i>.....	40
4.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	41
4.2. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	45
5. ÉTUDES DE CAS SUR LA GESTION DES ÉPANDAGES DE <i>BTI</i>	46
5.1. ÉTUDE DE CAS NO. 1 : PARC RÉGIONAL DE LA CAMARGUE EN FRANCE.....	46
5.2. ÉTUDE DE CAS NO.2 : VALLÉE DU RHIN EN ALLEMAGNE.....	47
5.3. COMPARAISON DES SUIVIS D'ÉPANDAGES À BASE DE <i>BTI</i> ENTRE LA CAMARGUE ET LA VALLÉE DU RHIN.....	49
6. EFFETS SUR LES INSECTES ET SUR D'AUTRES ARTHROPODES	52
6.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	52
<i>Effets directs</i>	52
<i>Effets indirects</i>	66
<i>Tendance d'abondances des insectes à l'échelle mondiale</i>	68
6.2. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	70
7. AUTRES ORGANISMES AQUATIQUES	73
7.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	73
<i>Effets directs</i>	73
<i>Effets indirects</i>	77
7.2. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	78
8. EFFETS SUR LES AMPHIBIENS.....	79
8.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	79
<i>Effets directs et indirects</i>	79
8.2. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	86
9. POISSONS	87
9.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	87
<i>Effets directs</i>	87
<i>Effets indirect</i>	89
9.2. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	91
10. EFFET SUR LES OISEAUX INSECTIVORES	92

10.1.	INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	93
	<i>Effets directs</i>	94
	<i>Effets indirects</i>	94
10.2.	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	103
11.	EFFETS SUR LES CHAUVES-SOURIS	105
11.1.	INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	106
	<i>Effets directs</i>	106
	<i>Effets indirects</i>	106
11.2.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	111
12.	EFFETS SUR LES ÉCOSYSTÈMES, LE PHYTOPLANCTON, LES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES ET LES CYCLES BIOGÉOCHIMIQUES	112
12.1.	INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	112
	<i>Effets directs et indirects</i>	112
12.2.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	114
13.	RÉSISTANCE AU BTI	115
13.1.	INFORMATIONS DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	115
13.1.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	118
14.	MÉTHODES ALTERNATIVES POUR LE CONTRÔLE DES INSECTES PIQUEURS	118
14.1.	PIÈGES	121
	<i>In2Care</i>	122
	<i>Biogents</i>	124
	<i>QISTA</i>	125
	<i>Expériences avec des pièges au Québec</i>	126
14.2.	RÉPULSIFS, INSECTIFUGES ET CHASSE-MOUSTIQUE	128
14.3.	AUTRES FORMES DE CONTRÔLE BIOLOGIQUE	130
14.4.	DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX PRODUITS BIOLOGIQUES	131
	<i>Développement de nouveaux ovicides</i>	132
	<i>Développement de nouveaux larvicides</i>	132
	<i>Développement de produits qui empêchent les moustiques de piquer</i>	132
	<i>Empêcher l'éclosion des œufs avec des nano-bio particules</i>	132
14.5.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	133
15.	ÉTUDES SOCIOLOGIQUES PORTANT SUR LA GOUVERNANCE ET SUR LES RECOURS JURIDIQUES PAR DES GROUPES ENVIRONNEMENTAUX : LE CAS DU PARC DE LA CAMARGUE EN FRANCE ET LE DOSSIER POLITISÉ EN ALLEMAGNE.	134
15.1.	INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	135
15.2.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	140
16.	ÉTUDES ÉCONOMIQUES	140
16.1.	INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE	140
16.2.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	142
17.	LACUNES IDENTIFIÉES DANS LA LITTÉRATURE SCIENTIFIQUE ET RECOMMANDATIONS POUR LA SITUATION AU QUÉBEC	143
18.	CONCLUSIONS GÉNÉRALES	148
	BIBLIOGRAPHIE	151
	ANNEXE 1	199

Sommaire exécutif

Afin de contrôler l'émergence des insectes piqueurs, des agents de lutte biologique, soit le *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (*Bti*) et le *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*; qui portait, jusqu'à récemment, le nom de *Bacillus sphaericus* (*Bsph*)) sont utilisés pour éliminer les stades larvaires des moustiques (Diptera : Culcidae) et des mouches noires (Diptera : Simuliidae). Le travail effectué pour cette revue de littérature met l'accent sur l'utilisation du *Bti* pour réduire la gêne causée par les insectes piqueurs. Il n'est pas lié au rôle des moustiques comme vecteurs de transmission de maladies, car il n'y a présentement aucune activité d'épandage de larvicides au Québec pour contrôler de manière préventive les moustiques comme vecteurs de maladies. L'inconfort est causé par les moustiques et mouches noires femelles qui, chez la plupart des espèces, ont besoin d'un repas sanguin, c'est-à-dire d'un apport supplémentaire en protéines pour permettre la maturation des œufs. Établir des seuils d'intervention est un sujet délicat, car cet inconfort est un sentiment subjectif, pour lequel il est difficile, voire impossible, d'utiliser une unité de mesure objective, car chaque personne a son propre seuil de tolérance.

Plus de 400 documents, portant sur les effets non désirés de l'utilisation des produits pour le contrôle des insectes piqueurs (majoritairement sur le *Bti*), ont été analysés. En plus des effets directs, les effets indirects et cumulatifs du contrôle des insectes piqueurs sur les réseaux trophiques, la biodiversité, le fonctionnement des écosystèmes ainsi que l'intégrité écologique sont élaborés. Les sources d'information sont majoritairement des articles scientifiques portant sur les impacts de l'utilisation du *Bti* et les impacts sur des organismes non ciblés. De plus, des rapports, des documents gouvernementaux et des sites Web ont été consultés.

Une des difficultés rencontrées a été la comparaison des différentes unités utilisées dans la description des doses et des concentrations du *Bti* et de ses formulations (telles que µg/l, mg/l ou ppm, l/ha, spores/ml, pints/acre, kg/ha, lbs/acre ou encore une tablette par 13,2 gallons (50 l)). Afin de pouvoir comparer et analyser cette information, le rapport « Unités de doses et de concentrations d'épandage de *Bti* » a été élaboré par madame Paula Cabrera (annexe 1). Dans ce document, les différentes unités trouvées dans les études sur le *Bti* ont été uniformisées. Ainsi, les Unités Toxiques Internationales (ITU) par unité de surface ou par unité de volume ont été utilisées quand il a été possible de les calculer.

Les études analysées proviennent de diverses régions géographiques, dans une variété de contextes environnementaux. Les formulations de *Bti* utilisées, les taux d'application et les fréquences d'épandages variaient aussi. Des études de laboratoire et des études sur le terrain, ainsi que des recherches à court et à long terme, ont fourni des informations complémentaires. Les études à court

terme permettent de mettre en évidence les effets directs reliés à la toxicité aiguë du *Bti*. En contrepartie, les études à long terme fournissent de l'information sur les effets indirects de cet insecticide, ainsi que sur le fonctionnement de l'écosystème et les réseaux trophiques. On souligne deux études à long terme dans deux contextes environnementaux différents avec de la gestion de contrôle d'insectes piqueurs ou de la démoustication: les suivis environnementaux sur les épandages de *Bti* dans le Parc naturel régional de Camargue à l'embouchure du Rhône, en France, et les études des impacts du *Bti* dans la vallée du Rhin, en Allemagne.

Même s'il y a beaucoup de résultats contradictoires dans la littérature, comme c'est souvent le cas pour des études écotoxicologiques, cette diversité d'études sur le *Bti* permet de mettre en évidence les conséquences potentielles suivantes sur les organismes non ciblés et les écosystèmes :

- Les formulations commerciales de *Bti* qui sont épandues contiennent des adjuvants qui peuvent aussi être toxiques pour certains organismes. Ces adjuvants devraient être listés sur les étiquettes commerciales. La toxicité du *Bti* lui-même n'est donc pas la seule responsable des effets non désirés, mais c'est le seul ingrédient testé pour sa toxicité.
- Comme observé en général pour des pesticides, il y a une variabilité importante de sensibilité aux différents pesticides, incluant le *Bti*, entre les différentes espèces, même à l'intérieur des familles.
- La mortalité des larves des moustiques et mouches noires suite à l'épandage de *Bti*, ainsi que l'élimination des stades adultes parmi les insectes émergents affecte l'intégrité des écosystèmes aquatiques et terrestres.
- En plus d'éliminer les moustiques et les mouches noires de la communauté d'insectes émergents, l'épandage de *Bti* a potentiellement un effet direct sur des populations des larves et l'émergence de chironomes adultes (Diptera : Chironomidae). Ceci peut avoir des répercussions indirectes sur d'autres organismes à travers les réseaux trophiques, car les chironomes peuvent être des invertébrés dominants dans des écosystèmes aquatiques.
- Au Québec, plusieurs arthropodes prédateurs des moustiques ou chironomes peuvent aussi être affectés par l'élimination de leurs proies, ce qui entraîne des répercussions sur leurs propres prédateurs (effet cascade dans les réseaux trophiques). C'est pourquoi les populations d'arthropodes prédateurs, tels les odonates et les araignées, risquent indirectement d'être affectées par l'épandage de *Bti*.
- Les oiseaux insectivores, tels les canetons de différentes espèces de canards (p. ex. le canard colvert) qui se nourrissent principalement des insectes émergents d'origine aquatiques, comme les chironomes, pendant les premières semaines de vie peuvent être impactés au Québec. Les populations d'oiseaux insectivores aériens, tels que les différentes espèces

d'hirondelles, qui sont toutes en déclin, pourraient être particulièrement affectées par une réduction des insectes volants.

- Les chiroptères (chauves-souris) pourraient aussi être à risque, si une réduction de leurs proies se produit. Il faut noter qu'au Québec les populations de chauves-souris résidentes sont déjà affaiblies par le syndrome du museau blanc. Les diptères constituent la diète principale de la petite chauve-souris brune notamment les chironomidés pour les populations forestières. Ainsi, les épandages de *Bti* pourraient constituer un risque pour des chauves-souris, particulièrement pendant la période de reproduction.
- Les amphibiens pourraient également être affectés par les épandages de *Bti*. Des études ont démontré, en Argentine et en Allemagne, des effets directs (tel que mortalité et impacts physiologiques) des formulations de *Bti* sur les têtards d'espèces d'anoures. Des expériences avec les formulations de VectoBac utilisées au Québec montrent que des têtards du crapaud d'Amérique et de la grenouille des bois répondent physiologiquement à l'exposition de ces formulations. Par contre, aucune tendance en fonction de la concentration des traitements de *Bti* n'a été mise en évidence lors des études au Québec. De plus, des larves de triton ont été affectées en Allemagne par des modifications des réseaux trophiques.
- Le peu d'information disponible ne permet pas d'évaluer les risques du *Bti* pour les poissons, même si certaines espèces peuvent être exposées aux épandages dans les cours d'eau et dans les plaines inondables au Québec. Une étude suggère néanmoins des effets potentiels des endotoxines sur les stades larvaires et d'autres mentionnent une diminution des proies pour les poissons insectivores. Le transport des spores de *Bti* à travers les bassins versants vers les embouchures (lors des applications pour le contrôle des mouches noires) pourrait avoir un effet sur les populations de poissons, de manière directe et indirecte, ainsi que tous les autres organismes qui s'y trouvent.
- La formulation VectoBac liquide pourrait poser un risque pour des crustacés ostracodes. Ceux-ci peuvent être un des invertébrés dominants dans certains écosystèmes aquatiques au Québec.
- Il n'est pas possible d'évaluer le risque potentiel pour des invertébrés tels que les annélides, les mollusques et les gastropodes même si ceux-ci peuvent se retrouver dans les écosystèmes aquatiques visés par les épandages de *Bti*, et ce en raison du manque de données scientifiques. Cependant, l'absence des études ne signifie pas qu'il n'y a pas d'impact.
- L'accumulation de *Bti*, suite aux épandages répétitifs, ainsi que son recyclage dans l'environnement ont été démontrés entre autres au Québec.

- La synergie des formulations de *Bti* avec d'autres composés toxiques qui se retrouvent dans les milieux humides, notamment des pesticides issus de l'agriculture, est un phénomène qui a été démontré et qui pourrait se produire au Québec.

Dans cette optique, une restriction des épandages de *Bti* dans les zones clés de reproduction des chironomes, et les habitats importants pour la reproduction de la sauvagine, des oiseaux insectivores aériens (hirondelles et autres) et des chauves-souris pourrait être envisagée. Par exemple, éviter l'épandage dans ces zones ou réduire la fréquence et le taux d'application au minimum, éventuellement en dessous du dosage recommandé. Les épandages devraient être ciblés et faire partie d'un programme de gestion intégré. Dans le cadre d'un tel programme, l'utilisation de *Bti* de manière locale et à petite échelle pour le contrôle de moustiques qui transmettent des maladies et qui se reproduisent souvent dans des cavités et de petits récipients artificiels est une des méthodes les plus humanitaires et les plus respectueuses de l'environnement. Par contre, l'utilisation de *Bti* à grande échelle dans des milieux humides afin de réduire les nuisances causées par les insectes piqueurs pourrait affecter des espèces non ciblées, le fonctionnement des réseaux trophiques ainsi que l'intégrité de l'écosystème. Pour cette raison, les épandages sur de grandes superficies devraient être réduits au strict minimum, car ils constituent un risque indirect pour les prédateurs aquatiques et terrestres comme les populations de chiroptères, de canards et d'oiseaux insectivores aériens et d'amphibiens par la réduction des sources de nourriture potentielle.

S'il y a présence d'amphibiens menacés, vulnérables ou susceptibles d'être ainsi désignés, l'épandage pourrait éventuellement avoir lieu quand les larves sont métamorphosées et qu'il n'y a plus de présence d'amphibiens aquatiques, tels que la salamandre pourpre (*Gyrinophilus porphyriticus porphyriticus*), la salamandre à quatre orteils (*Hemidactylium scutatum*) ainsi les différentes espèces d'anoures.

Ainsi, des méthodes de contrôle d'insectes piqueurs ou démoustication alternatifs à l'épandage de *Bti* doivent être envisagées dans le cadre d'un programme de gestion intégré. Parmi ces méthodes, les pièges à moustiques sont très sélectifs, notamment en éliminant seulement les femelles des diptères piqueurs et ceci seulement localement, au lieu de couvrir de grandes superficies. Au Québec, au moins deux expériences de contrôle de moustiques avec des pièges ont été tentées, soit à Châteauguay et dans la municipalité de Saint-André-de-Kamouraska. Ces deux expériences ont démontré le potentiel de cette méthode pour réduire les populations de moustiques comme le démontre également la littérature.

L'analyse de l'information disponible sur les effets du *Bti* sur les organismes non ciblés a mis en évidence que même si cet insecticide est homologué et utilisé au Québec depuis 1982, aucun suivi *in*

situ sur ses effets n'a été réalisé. Dans ce contexte, un suivi à long terme sur les populations d'organismes pouvant être affectés par les épandages autorisés de *Bti*, ainsi que le suivi des effets d'autres méthodes de démoustication alternatives, est particulièrement souhaité. Néanmoins, il est encore plus important de créer un « Programme intégré de gestion des insectes piqueurs au Québec ». Dans un tel programme, plus d'une méthode de lutte contre les moustiques pourrait être utilisée et l'implication de la communauté pourrait être envisagée.

Finalement, étant donné que les conditions environnementales d'application des formulations de *Bti* ne sont pas préalablement définies, telles que la température, la pollution et la profondeur de l'eau, il est difficile de prévoir la concentration finale du produit dans l'eau en relation avec son efficacité. Par ailleurs, la présence des compétiteurs pour la nourriture (p.ex. des daphnies) influence la disponibilité de *Bti* pour des larves de moustiques. De plus, des erreurs par le pilote d'aéronef, ou lors du traitement manuel à partir du sol, voire pendant la préparation de ces produits, peuvent influencer la concentration prévue. Ainsi, la prévision des effets de ces produits dans les écosystèmes est complexe.

Liste des acronymes

AChE	Enzyme acétylcholine estérase
ADNe	ADN environnemental
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
<i>Bsph</i>	<i>Bacillus sphaericus</i> (nouveau nom <i>Lysinibacillus sphaericus</i>)
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>Bti</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> variété <i>israelensis</i>
<i>Btk</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> variété <i>kurstaki</i>
<i>Btm</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> variété <i>morrisoni</i>
CAT	Catalase
CE ₅₀	Concentration effective, concentration médiane qui cause 50 % de réponse maximale chez l'organisme testé (EC ₅₀ : <i>effective concentration</i>)
CFU	Nombre de spores formant des colonies (<i>colony forming units</i>)
CL ₅₀	Concentration létale du produit chimique qui causant la mort de 50 % des individus (LC ₅₀ : <i>lethal concentration</i>)
CME0	Concentration minimale causant un effet observable (LOEC : <i>lowest-observed-effect concentrations</i>)
CSE0	Concentration sans effet observable (NOEC : <i>no-observed-effect concentrations</i>)
D	Dispersion des pesticides
DL ₅₀	Dose létale causant la mort de 50 % des individus lors des essais de toxicité aiguë.
E ₁	Les effets indirects sur l'écosystème
E _D	Les effets directs sur l'écosystème
EID Méditerranée	Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen
EMCA	<i>European Mosquito Control Association</i> – Association européenne pour le contrôle des moustiques
EMV	Espèces menacées et vulnérables
EPA	<i>Environmental protection agency</i> (États-Unis)-Agence pour la protection de l'environnement
ETS	Système de transport d'électrons
INRS	Institut national de la recherche scientifique

INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
ITU	<i>International Toxic Units</i> (Unités Toxiques Internationales)
GR	Enzyme glutathion réductase
GS	stade Gosner (<i>Gosner Stadium</i>)
GST	Enzyme glutathion-S-transférase
h	Heure
Hsp70	70 kilodalton <i>heat shock proteins</i> , protéines de choc thermique de 70 kilodalton (indicateur non spécifique de famille de protéines de stress)
KABS	<i>Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage e.V.</i> (<i>German Mosquito Control Association</i>)
LCPE	Loi canadienne sur la protection de l'environnement
LPA	Loi sur les produits antiparasitaires
LPO	Peroxydation lipidique (lipid peroxidation)
Ls	<i>Lysinibacillus sphaericus</i> (appelé jusqu'à récemment <i>Bacillus sphaericus</i>)
MELCC	Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques
MFFP	Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs
min	Minutes
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
N	Les espèces non-cibles affectées
NAS	<i>National Academy of Sciences</i> (États-Unis) l'académie nationale des sciences
P	Persistance des pesticides
PO	Dephenoloxidase
RI	Risques environnementaux de l'utilisation des pesticides
tGSH	Glutathione totale
total PO	Phenoloxidase-totale
VNO	Virus du Nil occidental
W	Facteur pour pondérer les effets directs sur l'écosystème
WMCA	<i>World Mosquito Control Association</i> - Association mondiale pour le contrôle des moustiques

1. Introduction

Au Canada, on retrouve plus de 400 espèces d'insectes piqueurs. La grande majorité de ceux-ci sont des diptères (les mouches) des familles des tabanidés (les taons et les mouches à chevreuil), des cératopogonidés (les brûlots), des culicidés (les moustiques) et des simulies (les mouches noires)¹. Au Québec, toutes les régions sont propices aux insectes piqueurs, ce qui inclut les zones habitées et fréquentées par les humains.

À l'origine, le développement de la filière de contrôle des insectes piqueurs vient principalement du secteur de la santé publique afin de prévenir la transmission des maladies telles que la malaria et la dengue et plus récemment, le virus du Nil occidental et le virus Zika. Outre ces maladies, les nuisances causées aux humains par ces insectes sont aussi reconnues depuis longtemps² et incitent plusieurs municipalités ou établissements touristiques (campings, stations touristiques, terrains de golf, etc.) à vouloir contrôler leur abondance afin de rendre les activités quotidiennes plus agréables. Au Québec, les traitements d'insecticides associés aux nuisances causées par les insectes piqueurs visent les diptères moustiques et mouches noires.

Le développement des diptères comprend généralement les stades : œuf, larve, nymphe et adulte. Les trois premiers stades, dits immatures, sont restreints aux milieux aquatiques chez les moustiques et les mouches noires. Selon les espèces, le développement larvaire des moustiques comprend généralement quatre stades, tandis que celui des mouches noires en comprend généralement de sept à neuf. La période de croissance peut s'étendre de quelques jours à plusieurs mois selon la température de l'eau, la nourriture disponible et l'espèce.

Les stades immatures des moustiques vivent dans l'eau stagnante (milieux lentiques). Ils occupent une grande variété d'habitats aquatiques, tels que des mares en bordure de cours d'eau, des marais, des étangs temporaires, des cavités dans les arbres et des récipients artificiels (barils, chaudières, pneus, gouttières, égouts, etc.). Dans ces gîtes, il y a généralement peu de prédateurs (p. ex. : poissons, larves de libellules) qui peuvent contrôler les populations de larves de moustiques. Les stades immatures de mouches noires se trouvent dans l'eau courante (milieux lotiques). Leur habitat va du petit ruisseau intermittent au grand cours d'eau³. Les milieux humides et aquatiques sont donc propices à la prolifération de nombreuses espèces de moustiques et de mouches noires. Jusqu'à récemment les milieux humides ont été considérés comme des milieux peu intéressants pour l'humain, et afin de réduire la nuisance par les moustiques Underwood (1903)² suggérait de drainer ces milieux afin d'éliminer les sites de reproduction. Or la reconnaissance de l'importance de milieux humides pour la conservation de la biodiversité et les services écologiques qu'ils procurent fait maintenant en sorte que ces écosystèmes sont restaurés et protégés, ce qui peut résulter en des conflits d'usage⁴. Aussi,

les distances de vol non orientées des moustiques (c.-à-d. vol de nuisance) varient de 25 m à 6 km, dépendant de l'espèce⁴.

Lorsque les adultes émergent, ils passent de la vie aquatique à la vie aérienne¹. Les moustiques et les mouches noires femelles ont besoin d'un apport sanguin (hématophagie) pour compléter le développement des œufs⁵. Elles ont donc développé la capacité de repérer les hôtes potentiels par leur odeur et l'émanation de gaz carbonique. Cet apport sanguin est obtenu en piquant généralement des oiseaux et mammifères, incluant les humains¹. Des 80 espèces de moustiques présentes au Canada, 50 espèces sont présentes au Québec⁶. Lors d'une étude, en Allemagne, 775 moustiques (appartenant à 23 espèces), ayant eu un repas sanguin, ont été capturés et 32 espèces d'hôtes ont été identifiées à l'aide de PCR (Börstler et al., 2016)⁷. Les mammifères non humains dominaient les hôtes avec 73,8 % de tous les moustiques capturés, suivis par les humains avec 19,6 % et les oiseaux avec 6,6 %⁷. Les hôtes les plus communs étaient des chevreuils (*Capreolus capreolus*; 33,3 % de tous les moustiques capturés, 65 % de toutes les espèces), des humains (*Homo sapiens*; 19,6 %, 90 %); des bovins (*Bos taurus*; 13,0 %, 60 %), et les sangliers (*Sus scrofa*; 15,0 %, 50 %) ⁷. Cette étude ne précise pas l'abondance des hôtes potentiels autour des sites de capture ni la composition des communautés de moustiques des sites, ainsi il n'est pas possible de déterminer la préférence d'une espèce d'hôte ou une autre. Quelques espèces de moustiques semblent choisir leur hôte, mais la majorité s'avère plutôt opportuniste⁸. Par ailleurs, les espèces printanières de moustiques au Québec sont toutes piqueuses (Maire et al. 1976⁹).

Lorsque les œufs sont suffisamment développés, les femelles les déposent dans des milieux susceptibles d'être fréquemment inondés. Le succès d'éclosion dépend généralement de l'intensité de l'inondation (quand il n'y a pas assez d'eau, il n'y a pas d'éclosion)⁵. Les œufs peuvent demeurer dormants pendant plusieurs années et chez certaines espèces, l'éclosion est déclenchée seulement après plusieurs inondations. Ce phénomène est la diapause, ainsi au cours de leur cycle de vie, le développement peut arrêter temporairement ou l'intensité des activités métaboliques peut être réduite⁵. Cette stratégie peut être utilisée en périodes sèches ou pour survivre à l'hiver. Chez certaines espèces de moustiques univoltines, la diapause est obligatoire (p. ex. certaines espèces d'*Aedes* émergents au printemps), l'œuf éclot après l'hiver et il y a seulement une génération par année. Les espèces multivoltines ont une diapause facultative et peuvent avoir plusieurs générations par année (surtout les espèces estivales et de fin d'été, notamment des espèces d'*Anopheles* et *Culex*). Certaines espèces peuvent même hiverner à l'état adulte (*Culex* et *Anopheles*). Ces femelles se sont déjà accouplées, mais n'ont pas encore pris l'apport sanguin nécessaire au développement de leurs œufs. Il y a aussi quelques espèces qui passent l'hiver sous forme larvaire¹⁰.

Comme pour les moustiques on retrouve chez des mouches noires des espèces univoltines ainsi que multivoltines. Certaines espèces multivoltines peuvent avoir sept ou plus générations par année dans les régions d'Amérique du Nord avec un climat favorable et le nombre de stades larvaires varie de six à dix^{11,12}. L'apport sanguin est obtenu en piquant des oiseaux et des mammifères (incluant les humains) et comme pour les moustiques, l'attraction vers l'hôte est une combinaison de l'émanation de CO₂ et différents leurres¹¹.

Les insectes piqueurs jouent un rôle non négligeable dans le fonctionnement de l'écosystème et les réseaux trophiques et rendent également des services écologiques. Les moustiques et similies peuvent par exemple¹⁰ :

- Être une source de nourriture pour la faune aquatique, terrestre et aérienne à tout stade de développement.
- Filtrer l'eau, se nourrir de microorganismes aquatiques et décomposer la matière organique pendant les stades larvaires.
- Être des prédateurs de larves d'autres espèces de moustiques (p. ex. *Psorophora ciliata* et *Anopheles barberi*).
- Être des pollinisateurs en se nourrissant du nectar des fleurs.

De plus, les différents stades de moustiques peuvent être des hôtes de parasites, champignons et microorganismes et les adultes peuvent être des vecteurs de maladies chez des humains et autres animaux¹⁰.

Le contrôle des insectes piqueurs afin d'en réduire la nuisance est considéré par une grande partie de la population humaine comme une action évidente et incontournable au même titre que l'installation des moustiquaires dans les fenêtres des maisons. C'est une sorte de dogme, car ces personnes ne connaissent généralement pas le rôle important de ces insectes dans les réseaux trophiques et le fonctionnement des écosystèmes. Ceci va entre autres de pair avec la méconnaissance historique de l'importance des milieux humides, qui a résulté en la dégradation et disparition de ces habitats essentiels^{13,14}. Ces méconnaissances résultent en l'idée que la « non-intervention n'existe pas » dans le domaine du contrôle des insectes piqueurs¹⁵. Ainsi, il est important d'améliorer la connaissance de la biodiversité et le rôle des différents organismes des milieux humides et aquatiques, incluant celle des insectes piqueurs dans les écosystèmes afin de rendre l'absence d'intervention acceptable pour la population.

La bactérie *Bacillus thuringiensis* (Bt) est utilisée pour lutter contre plusieurs insectes, incluant les insectes piqueurs. Bien que le Bt ait toujours été considéré comme étant un insecticide biologique avec des effets négligeables pour l'environnement, des recherches faites pendant les dernières années

suggèrent qu'il aurait des effets directs et indirects indésirables sur certains organismes non ciblés. Les effets directs se manifestent au niveau des individus ayant absorbé ou ingéré le produit, soit en causant des mortalités, ou encore des altérations au niveau physiologique et comportemental^{16,17}. Les effets indirects des épandages incluent des réductions de la disponibilité de nourriture pour des prédateurs, des flux d'énergie dans les réseaux trophiques et des changements au niveau du fonctionnement des écosystèmes, ainsi que des changements dans l'habitat de certaines espèces (p. ex. les modifications aux sites de nidification, d'oviposition, de repos et d'accouplement)^{16,17}. L'ensemble de ces effets directs et indirects sont susceptibles d'altérer les écosystèmes et leur fonctionnement. Ainsi il y a un lien de cause à effet entre l'impact direct occasionné par la diminution des populations d'arthropodes ciblées par l'épandage de Bti, tel que les diptères, ce qui réduit l'abondance de proies potentiellement disponibles pour le prochain niveau trophique.¹⁸ (figure 1). Ceci peut résulter en des effets indirects d'abord sur les individus d'une espèce non ciblée, car il y a moins de nourriture disponible, surtout pour les espèces spécialisées et s'il y a peu ou pas des proies alternatives ou bien si ces proies alternatives sont de moindre qualité, résultant en une détérioration de la santé physique (*fitness*) de l'individu. Ce qui peut finalement avoir des répercussions au niveau des populations d'espèces non ciblées, par exemple par un impact sur la reproduction, qui réduit l'abondance de la population¹⁸, par exemple certaines espèces d'oiseaux ou poissons comme présentés dans les chapitres suivants. Par ailleurs, les épandages à base de *Bti* s'effectuent depuis 1982 au Québec, sans que soient faits des suivis environnementaux des conséquences sur les organismes non ciblés et sur le fonctionnement de l'écosystème.

Cette revue de littérature est orientée vers le contrôle des insectes piqueurs afin de réduire la gêne causée par ces insectes. Elle n'est pas axée sur les sujets reliés à la santé publique et aux vecteurs de maladies, ces thèmes seront néanmoins brièvement abordés à la fin de l'introduction (section 1.5).

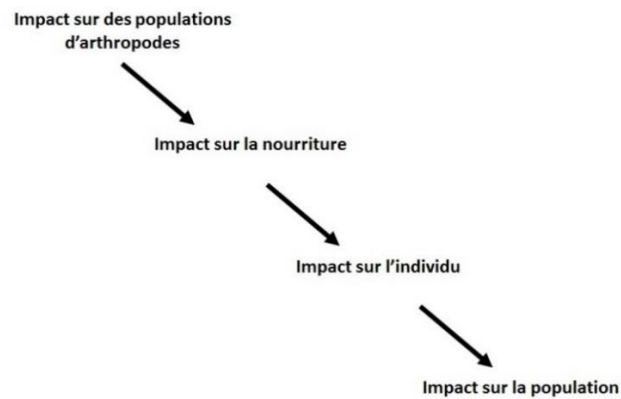


Figure 1. Lien de cause à effet entre l'impact direct par la diminution des populations d'arthropodes ciblées par l'épandage de *Bti*, tel que les diptères, qui réduit l'abondance de proies potentiellement disponibles pour le prochain niveau trophique, résultant en une détérioration de la santé physique de l'individu (*fitness*). Ce qui peut finalement avoir des répercussions au niveau des populations d'espèces non ciblées (adapté de Burgess *et al.* 1995¹⁸).

Maire *et al.* (1976)⁹ présentent bien la problématique de nuisances des insectes piqueurs au Québec, telle que perçue historiquement :

« Les nombreuses espèces d'insectes piqueurs présentes au Québec ne soulèvent pas, comme dans les milieux tempérés chauds et sous les climats tropicaux, d'importants problèmes de santé publique. C'est une des raisons qui peuvent expliquer le fait que ce champ d'études ait été peu développé jusqu'alors au Québec. Le Moyen-Nord, notamment, n'était pratiquement pas mis en valeur et fort peuplé. La nuisance par les insectes piqueurs, qui se développent en densités de plus en plus fortes au fur et à mesure que l'on se rapproche des zones arctiques, n'était donc importante que pour les usagers de la forêt, et qui, bon gré mal gré, s'en accommodaient.

Depuis quelques années, cependant, les données du problème changent, et l'on envisage de plus en plus nettement des plans de contrôle aussi bien des moustiques que des simuliés. En premier lieu, les principales agglomérations du Québec méridional sont en plein essor économique ; autour des centres urbains se développent alors des banlieues constituées de quartiers résidentiels installés à même la forêt. En outre, les paysages ruraux immédiats sont transformés en zones industrielles ou soumis à d'importants aménagements du réseau routier. Ces deux actions combinées provoquent un abandon soudain et complet de l'espace rural péri-urbain, ce qui se traduit par une augmentation des zones de prolifération des espèces culicidiennes, par suite du mauvais entretien des terrains abandonnés, de moins en moins bien drainés. Le développement des agglomérations s'accompagne enfin, dans ces régions, d'un besoin de plus en plus manifeste pour les citoyens de s'évader les jours de congé dans la nature environnante. Les centres de loisirs en plein air se multiplient, la création de parcs naturels aménagés pour le campement s'intensifie. Tous ces faits sont à combiner à la notion de confort qui accompagne l'expansion de la ville vers les campagnes. »

1.1. *BACILLUS THURINGIENSIS* ET *BACILLUS THURINGIENSIS* VARIÉTÉ *ISRAELENSIS*

Le *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (*Bti*) a été isolé en 1976 dans le désert du Negev, en Israël, par Tahori et Margalit, à partir d'une mare contenant de nombreuses larves de *Culex pipiens* mortes ou agonisantes^{19,20,21}. Cette souche est une variété de la bactérie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), laquelle est omniprésente, y compris au Québec, et nécrotrophe²². Il y a 20 ans, on avait déjà isolé des milliers de souches de *Bt*²³, 69 sérotypes (subdivisions taxonomiques basées sur des caractéristiques l'antigène flagellaire 'H')²² et plus de 80 sérovars (subdivisions taxonomiques basées sur des caractéristiques des antigènes) étaient identifiés²⁴. Ces différentes variétés produisent des endotoxines mortelles pour différents groupes de larves d'insectes²⁵. C'est pourquoi le *Bt* est utilisé en lutte biologique. Pour chaque variété de *Bt*, il y a plusieurs souches (*strains*) avec des caractéristiques spécifiques. Par exemple, le *Bt* variété *kurstaki* (*Btk*) est utilisé contre les larves de lépidoptères (chenilles) telles que la tordeuse des bourgeons d'épinette (*Choristoneura fumiferana*), l'arpenteuse de la pruche (*Lambdina fiscellaria*), etc.. De plus, différentes toxines de *Bt* peuvent être incorporées dans des plantes génétiquement modifiées afin de contrôler des dommages causés par des organismes nuisibles en agriculture. Les différentes formes de *Bt* occupent plus de 50 % du marché des biopesticides²⁶ puisqu'ils ne sont pas considérées nocives pour l'environnement²⁷. Il n'y a pas mention dans la littérature que le *Bti* 'naturel' (ou indigène) ait été détecté au Québec.

Le *Bti* produit, pendant sa phase de sporulation, des cristaux protéiques faisant partie de deux groupes d'endotoxines, Cry11Aa, Cry4Aa et Cry4Ba ainsi que Cyt1Aa. Les mécanismes d'action de ces deux groupes de toxines ne sont pas encore bien compris²⁸. Mais une grande partie du mécanisme de bioactivation au niveau moléculaire de Cyt1Aa a été observé récemment par Tetreau *et al.* (2020)²⁹. La figure 2 présente de manière schématique les mécanismes des toxines Cry et Cyt dans l'intestin d'une larve de moustique. Ces cristaux ne sont toxiques que pour certains insectes et l'information scientifique indiquait, il y a 20 ans, que ce biopesticide peut être utilisé sans risque pour les humains et pour tout autre mammifère potentiellement exposé (Boisvert et Boisvert 2000)³⁰. Or, Lacey (2007)³¹, Ben-Dov (2014)³² et Tetreau *et al.* (2020)²⁹ mentionnent que la toxine Cyt1A de *Bti* dans sa forme soluble peut tuer des cultures de cellules de certains vertébrés. Van Frankenhuyzen (2009)³³ mentionne que certaines endotoxines de type Cry de *Bt* peuvent tuer certaines cellules cancérigènes. D'ailleurs, on a identifié un nouveau groupe de toxines Cry de *Bt* connu sous le nom de parasporines, qui n'ont pas d'impact sur les insectes, mais qui ont des effets cytolytiques contre certaines cellules cancérigènes humaines³³⁻³⁷. Par contre, ces parasporines n'affectent pas des cellules saines (comm. pers. J.-L. Schwartz, 16 mai 2019). Domanska (2016)³⁵ fait d'ailleurs une mise en garde pour l'utilisation des pesticides à base de *Bt* dans le futur en raison de ce potentiel de tuer des cellules de mammifères.

Il est possible que la définition du terme « toxique » comme elle est utilisée habituellement, ne soit pas appropriée pour décrire les effets des toxines Cry de *Bt* sur les mammifères, car ils ne provoquent pas de mortalité directe, même lorsqu’injectés dans des animaux de laboratoire tels que des souris (Rubio-Infante et Moreno-Fierros 2016³⁸). Mais ils ne sont pas inoffensifs, puisque ces molécules peuvent avoir des effets physiologiques qui peuvent devenir pathologiques telles que le développement d'anticorps ou le développement d'allergies chez les humains³⁸. De plus, *Bti* et *Btk* affectaient des cellules humaines, résultant entre autres en une diminution des bioréductions (activité redox des cellules), de la dégradation des protéines immunodéTECTABLES et de la cytolysE (Tayabali et Seligy 2000³⁹).

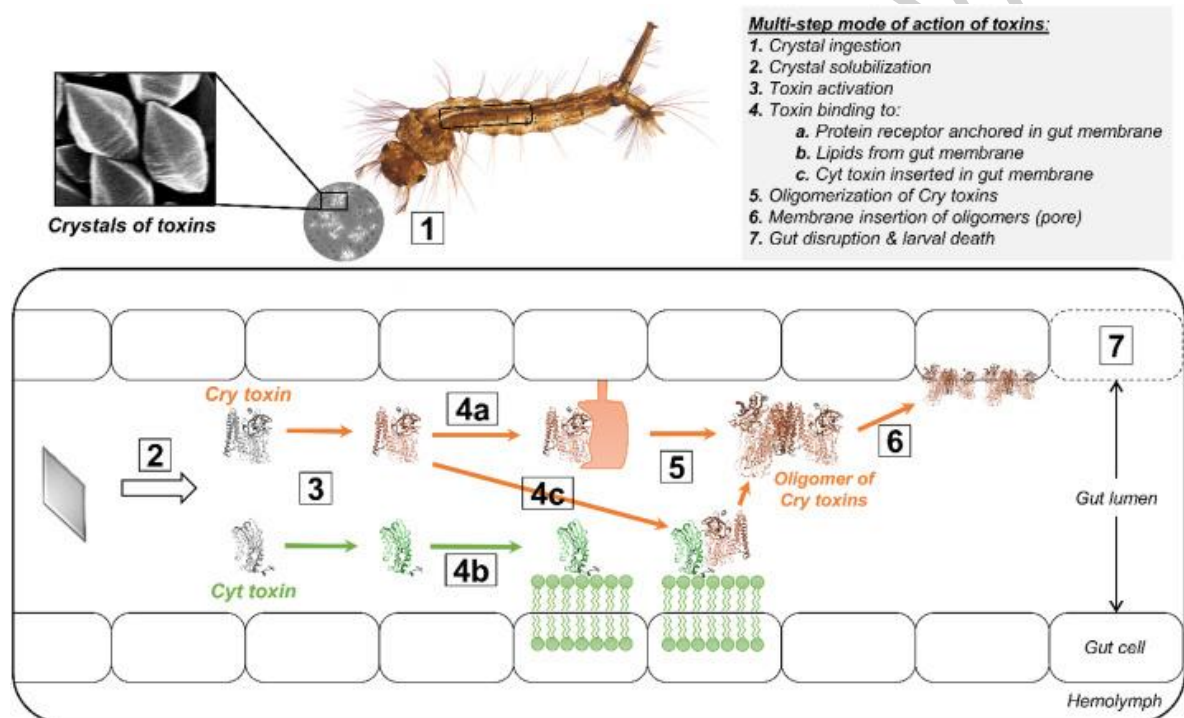


Figure 2. Schéma des mécanismes d'action des toxines Cry et Cyt dans l'intestin d'une larve de moustique (Brühl *et al.* 2020⁴⁰).

Contrairement à d'autres variétés de *Bt* qui nécessitent la présence de cristaux et de spores pour induire la mort chez un insecte (p. ex. le *Btk*), l'effet insecticide du *Bti* provient exclusivement des cristaux⁴¹, agissant comme le ferait un poison. Les spores et les cellules végétatives du *Bti* ne sont aucunement impliquées dans le processus insecticide⁴¹. Lors de la production de *Bti*, les cristaux avec les toxines ne sont pas séparés des spores. Pour être toxiques, les cristaux doivent être ingérés par un organisme qui possède un tube digestif à pH hautement alcalin, des enzymes capables de libérer les molécules toxiques, et finalement, des récepteurs cellulaires compatibles avec les toxines.

Les spores de *Bti* peuvent germer dans l'insecte après l'avoir tué⁴² ou suite à des épandages dans des conditions favorables, tels que la présence de cadavres d'insectes²². Par la suite, quand les conditions deviennent défavorables, par exemple le manque d'éléments nutritifs ou le dessèchement, les bactéries forment de nouveau des spores avec des cristaux de toxines. Ainsi, le *Bti* peut se reproduire, éventuellement proliférer et persister dans la nature (se recycler) et éventuellement s'accumuler⁴³⁻⁴⁶. Deprés *et al.* (2011)⁴⁴ mentionnent dans leur revue de littérature qu'il y a eu plusieurs études sur le devenir des toxines Cry de *Bt*, mais qu'il manque des études détaillées sur le sort des différentes toxines de *Bti* dans la nature. Afin d'éviter la possibilité de prolifération et l'accumulation des spores viables de *Bti* dans la nature, c.-à-d. le recyclage⁴⁷, les formulations utilisées en Allemagne sont stérilisées par irradiation gamma avant l'épandage^{48,49}, ce traitement réduit l'efficacité de ces formulations de 20 à 30 %⁵⁰. Manasherob *et al.* (2002)⁵¹ et des publications citées dans cette publication mentionnent que la photo-dégradation par l'exposition au soleil, surtout par l'UV-B, réduit l'activité de *Bti* après application. Par ailleurs, la majorité des publications en lien avec le *Bti* traitent de l'efficacité de l'épandage sur l'abondance d'insectes piqueurs⁵².

En plus de l'utilisation pour le contrôle des insectes piqueurs, le *Bti* peut être utilisé pour le contrôle de certains insectes avec un stade aquatique (diptères) et qui ne piquent pas, tel que des chironomes^a (voir section 6) et des psychodes, aussi connus sous le nom « moucheron des éviers » ou « mouches papillons » (Diptera : Psychodoidea)^b, qui vivent souvent dans des filtres et des drains des systèmes d'épuration. Le *Bti* peut aussi être utilisé pour le contrôle de certains insectes terrestres, qui ne piquent pas et qui n'ont pas de stade aquatique, tel que des larves de mouches de terreaux (*fungus gnats*; Diptera : Sciaridae), en culture biologique^{c,53}, des larves du sylvicole des fenêtres (*Sylvicola fenestralis*; Diptera : Anisopodidae)⁵⁴ et des larves de mouches de champignons (Diptera : Sciaridae), en culture biologique⁵³, ainsi que la tipule des prairies (*Tipula paludosa*, Diptera, Tipulidae)⁵⁵. Les impacts potentiels sur des espèces non ciblées ainsi que sur l'intégrité de l'écosystème ne sont généralement pas mentionnés dans les documents cités dans ce paragraphe. Par ailleurs les larves de beaucoup de diptères dans le sous-ordre Nematocera tels que les Bibionidae, Culicidae, Simuliidae, et Tipulidae ont un pH intestinal très alcalin (Frouz *et al.* 2007⁵⁶ et références dans ⁵⁶), qui facilite grandement la

^a <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/pests/non-biting-midge-chironomids/> et <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/04/vectobac-sup-sup-12as-specimen-label.pdf>; consulté 19 juin 2020.

^b <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Aqueous> et <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/04/vectobac-sup-sup-12as-specimen-label.pdf>; consulté 19 juin 2020.

^c <https://nufarm.com/usturf/product/gnatrol-wdg/>; consulté 19 juin 2020.

libération des toxines du *Bti*. Plusieurs larves de lépidoptères ont aussi un pH alcalin dans leurs intestins⁵⁶.

Laengle et Strasser (2010)⁵⁷ ont développé un indicateur permettant de comparer les risques (RI) environnementaux de l'utilisation de différents pesticides microbiologiques et conventionnels en utilisant les paramètres de persistance (P), de dispersion (D), d'espèces non-cibles affectées (N), d'effets directs sur l'écosystème (E_D) pondéré (W) ainsi que les effets indirects sur l'écosystème (E_1) :

$$RI = (P + D) * [N + (E_D * W) + E_1]$$

Cette analyse conclut que les produits microbiens présentent beaucoup moins de risques pour l'environnement que les pesticides chimiques, mais que l'utilisation de *Bt* présente le plus gros risque parmi le groupe des pesticides microbiens étudiés⁵⁷. Leur indicateur pour l'utilisation de *Bt* ne tient pas compte de différentes souches de *Bt*, tel que le *Bti*, le *Btk*, etc. Ils ont combiné l'information disponible (avant 2000) pour chacune des souches telles que présentées dans les deux documents cités (Joung et Côté 2000^{58,59} et Santé Canada 2006⁶⁰). De plus, les différentes formulations de produits contenant du *Bti* n'ont pas été prises en compte^d.

1.2. *LYSINIBACILLUS SPHAERICUS*

La bactérie *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*) (appelé jusqu'à récemment *Bacillus sphaericus*⁶¹, *Bsph*), forme, comme le *Bti*, des spores, mais avec deux toxines dans un complexe spore-cristal^{61,5}. Les toxines de certaines souches sont toxiques pour les insectes piqueurs et le mode d'action de ces toxines s'apparente à celui du *Bti*⁴⁸.

La bactérie *Ls* est homologuée au Canada depuis 2005 pour le contrôle des insectes piqueurs et elle a été utilisée dans des programmes de traitement préventif contre le virus du Nil occidental (VNO)⁶². Les toxines de *Ls* sont particulièrement efficaces et spécifiques contre les larves de certains moustiques du genre *Culex* (Culicidés). Les autres espèces de moustiques sont moins sensibles à ce larvicide. Toutefois, les larves de moustiques deviennent de plus en plus résistantes aux toxines de cette bactérie⁶². Pour cette raison, il faut alterner l'utilisation de *Ls* avec du *Bti* ou avec un traitement chimique tel que le méthoprène. Ce dernier est un analogue de l'hormone juvénile des insectes,

^d Quelques exemples des valeurs de l'indicateur du risque (RI; traitement foliaire) pour DDT, atrazine (produits chimiques), *Beauveria bassiana* et *Bt* (produits biologiques) sont 4275, 3218, 260 et 280, respectivement⁵⁷. Inclure l'application de *Bti* dans l'eau ainsi que les effets indirects potentiels sur le réseau trophique et le fonctionnement de l'écosystème présentés dans cette revue de littérature devrait augmenter la valeur RI.

laquelle agit comme un régulateur de croissance quand il est utilisé comme insecticide. Il perturbe le processus de mue des insectes et d'autres arthropodes causant leur mortalité au stade nymphal⁶³.

La gamme de larves de moustiques qui peut être contrôlées avec de la *Ls* est beaucoup plus petite que celle qui peut être contrôlée avec du *Bti*, car la sensibilité à ce larvicide est très variable selon les différentes espèces, même à l'intérieur des Culicidés^{3,61}.

Comme pour le *Bti*, les spores de *Ls* peuvent germer suite à l'épandage quand les conditions sont favorables. Par la suite, quand les conditions deviennent défavorables, les bactéries forment de nouveau des spores avec des toxines. Ainsi, la *Ls* peut se reproduire et persister dans la nature (se recycler) et éventuellement s'accumuler⁶¹ comme le *Bti*. La *Ls* et le méthoprène peuvent être employés dans les endroits plus pollués, tels que les puisards, ou dans des endroits où il y a beaucoup de matière organique, comme les fosses à fumier, où le *Bti* est moins efficace⁶⁴.

Dans le présent document, l'emphasis est mise sur le *Bti*, car l'utilisation de *Ls* est relativement restreinte comparativement à celle du *Bti*.

1.3. HOMOLOGATION

Le *Bti* a été homologué par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada en 1982⁶⁰. Suite à la publication en 2006 du « Projet d'acceptabilité d'homologation continue - Réévaluation du *Bacillus thuringiensis* »⁶⁰, la dernière évaluation du *Bt* (toutes les variétés de *Bt*, incluant le *Bti*) a été complétée en 2008⁶⁵. Il y a eu quelques ajouts mineurs en 2010⁶⁶. La réévaluation des pesticides par l'ARLA a lieu tous les 15 ans⁶⁷. La Décision de réévaluation du *Bt* (RVD2008-18)⁶⁵ indique que : « Une évaluation des données scientifiques disponibles a révélé que les produits à base de *Bt* ne présentent pas de risque inacceptable pour la santé humaine ni pour l'environnement s'ils sont utilisés selon le mode d'emploi figurant sur leur étiquette (...) ». En 2018, Environnement et Changement climatique Canada et Santé Canada ont publié l'« Évaluation préalable finale de la souche ATCC^e 13367^f de *Bacillus thuringiensis* »⁶⁸ dans le cadre de la procédure d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999 (L.C. 1999, ch. 33, ci-après la LCPE)⁶⁹. Dans cette évaluation préalable⁶⁸, qui combine comme pour les évaluations précédentes toutes les variétés de *Bt*, on peut lire : « Malgré l'ubiquité et l'importante utilisation de diverses sous-espèces de *B. thuringiensis*, il n'existe, dans les

^e American Type Culture Collection

^f Le terme la « souche ATCC 13367 » regroupe ici tous les différents sérovars, toutes les variétés et toutes les formulations de *Bt* disponibles sur le marché Canadien.

écosystèmes où elles sont utilisées, aucun effet nocif connu à l'échelle des populations sur les espèces ciblées et aucun effet nocif sur des plantes, des vertébrés ou des invertébrés terrestres ou aquatiques non ciblés. »⁶⁸ et elle conclue : « *D'après les renseignements disponibles, il est conclu que la souche ATCC 13367 de B. thuringiensis ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64 a) ou 64 b) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui ont ou peuvent avoir un effet nocif immédiat ou à long terme sur l'environnement ou sur la diversité biologique, ou qui constituent ou peuvent constituer un danger pour l'environnement essentiel à la vie. Il est aussi conclu que la souche ATCC 13367 de B. thuringiensis ne satisfait pas aux critères de l'alinéa 64c) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ni dans des conditions qui constituent ou peuvent constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.* »⁶⁸.

Aux États-Unis, l'*Environmental Protection Agency* (EPA) a commencé la réévaluation du *Bt* en 2011 et l'échéance, prévue pour 2018⁷⁰, a été reportée à 2020, à cause d'un manque de données⁷¹. L'EPA mentionne que l'évaluation de *Bt* est complexe puisqu'il y a un total de 21 variétés et souches (agent actif) différentes⁷² qui doivent être analysées individuellement⁷⁰. De plus, il y a un nombre de documents et d'évaluations scientifiques manquantes dans les archives de l'EPA⁷². Ainsi, certains travaux devraient éventuellement être refaits. Même si les procédures du Canada et des États-Unis sont indépendantes, il y a une collaboration étroite⁷³ et les exigences canadiennes en matière de données ont été harmonisées avec les exigences de l'EPA⁷⁴.

Le Parlement européen a adopté en 2012 le nouveau règlement (UE) no 528/2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides⁷⁵ qui remplace la directive 98/8/CE concernant la mise sur le marché des produits biocides. Lors de la revue réglementaire sur l'utilisation de *Bti* en horticulture en 2013, l'*European Food Safety Authority* conclut qu'il y a des données montrant la faible toxicité sur les humains et l'environnement, mais qu'il n'y a pas suffisamment de données pour justifier la plupart de ces affirmations sur la faible toxicité⁷⁶. L'homologation de *Bti* en Europe expire en 2020⁷⁷. Par ailleurs, un groupe de travail international (Suède, Allemagne, France, Royaume-Uni) prépare une revue de littérature sur les impacts de l'épandage des formulations de *Bti* sur des espèces non ciblées et des effets cumulatifs sur les réseaux trophiques et les écosystèmes en Europe (Brigitte Poulin, comm. pers. 5 mars 2019). Le protocole et l'objectif pour le travail de cette équipe en Suède ont été publiés récemment et un des sujets abordés sera le lien entre les résultats obtenus et l'affiliation des auteurs et les sources de financement (Land *et al.* 2019⁷⁸). Une revue de littérature par une équipe franco-allemande vient d'être publiée (Brühl *et al.* 2020⁴⁰) et est présentée dans le présent document.

Afin d'homologuer un pesticide au Canada, aux États-Unis et ailleurs, le fabricant doit réaliser plusieurs essais et des études scientifiques précises^{70,79} dont les résultats ne sont pas nécessairement publiés⁷². Ces études sont faites sur un nombre très limité d'espèces et le critère pour déterminer la toxicité pour des espèces non ciblées est l'effet létal (toxicité aigüe - mortalité). Or, les effets sublétaux (effets directs - toxicité chronique) ne sont pas évalués. Les effets sublétaux d'un pesticide sont des effets physiologiques ou comportementaux sur les individus qui survivent à l'exposition de ce même pesticide⁸⁰. Des exemples des effets sublétaux sont le retard de développement, l'absence de métamorphose ou de nymphose, la présence de malformations chez des individus adultes²², l'altération de la fécondité et de la fertilité, la perturbation du comportement de recherche de proies et plusieurs autres perturbations au niveau physiologique⁸¹. De la même manière, les effets indirects des pesticides (p.ex. la modification d'un composant de l'habitat comme l'abondance et qualité de nourriture d'une espèce non ciblée ou la qualité de l'eau) ne sont pas évalués par le processus d'homologation. Aussi les tests ne sont généralement pas effectués sur des périodes assez longues pour observer les impacts sur des espèces non ciblées⁸².

Jusqu'à maintenant, seul l'agent actif des pesticides est testé^{83,84}. Or, la toxicité des formulations avec des adjuvants est parfois plus importante que celle de l'ingrédient actif^{83,84,85}. De plus, les effets cumulatifs de la combinaison de plusieurs contaminants potentiellement présents dans l'environnement ne sont pas considérés, ni l'impact potentiel des produits de dégradation des ingrédients actifs ainsi que les adjuvants. Le *National Academy of Sciences* (États-Unis; NAS) a produit un rapport, en 2013, sur l'évaluation des risques de l'utilisation des pesticides pour des espèces menacées et vulnérables (EMV)⁸⁶. Le NAS recommande d'inclure les effets indirects, les effets sublétaux et cumulatifs, ainsi que l'effet des formulations et des mélanges dans la nature avec d'autres pesticides dans l'évaluation du risque pour les EMV⁸⁶. De plus, le *Center for Biological Diversity* a demandé à l'EPA d'évaluer les impacts potentiels et cumulatifs sur les habitats critiques des EMV par les agents actifs ainsi que les autres ingrédients des formulations et les effets synergiques des autres contaminants présents dans le milieu tel que recommandé par le NAS⁸⁷. L'EPA mentionne que ces sujets seront inclus dans la prochaine décision d'homologation pour le *Bt* quand les méthodes scientifiques nécessaires seront disponibles⁷¹.

La Commissaire à l'environnement et au développement durable du bureau du Vérificateur général du Canada a publié à l'automne 2015 un rapport portant sur la sécurité des pesticides⁸⁸. Elle mentionne que depuis 2006, la Loi sur les produits antiparasitaires (L.C. 2002, ch. 28; ci-après LPA) exige que l'ARLA tienne compte de l'exposition globale et des effets cumulatifs sur la santé et qu'elle applique des marges de sécurité lorsqu'elle réévalue les risques sanitaires. La LPA décrit le risque pour l'environnement comme étant le « risque de dommage à l'environnement, notamment à sa diversité

biologique, résultant de l'exposition au produit antiparasitaire ou de l'utilisation de celui-ci, compte tenu des conditions d'homologation proposées ou fixées »⁸⁹. Sous la recommandation de la commissaire, l'ARLA avait prévu de mettre en œuvre sa propre méthode d'évaluation des risques cumulatifs en 2017-2018, car la communauté scientifique internationale n'a toujours pas atteint de consensus sur la meilleure façon d'évaluer les effets cumulatifs des produits antiparasitaires⁸⁸. Ainsi, on peut s'attendre à ce que les effets indirects sur la biodiversité ainsi que sur le fonctionnement et l'intégrité des écosystèmes considérés dans ce survol soient également analysés dans le cadre de la prochaine réévaluation du *Bti* tant au Canada, qu'aux États-Unis. Par contre, les marges de sécurité pour la protection de l'écosystème et de la biodiversité pour l'utilisation de *Bti* doivent encore être établies. L'évaluation préalable de 2018⁶⁸ n'a pas évalué les effets indirects, les effets sublétaux et les risques cumulatifs des différentes formulations de *Bti*. Ainsi, il reste une incertitude sur les risques environnementaux, même si l'on suit les directives d'application selon l'étiquette des différentes formulations. Par ailleurs, l'ARLA a cessé d'accorder des homologations conditionnelles (temporaires) pour de nouveaux produits aux termes de la LPA et de ses règlements d'application à compter du 1^{er} juin 2016⁹⁰.

Les marges de sécurité, ou facteur de protection supplémentaire sont établies pour l'utilisation des pesticides, surtout pour protéger les humains et particulièrement les femmes enceintes, les nourrissons, les enfants et les personnes âgées. Ces marges de sécurité servent à compenser les incertitudes, le manque de données, les différences de sensibilité d'un individu ou d'une espèce à l'autre.

Dans le passé, le *Bti* « pur » était considéré comme étant respectueux de l'environnement, car les toxines contenues dans ses spores sont très sélectives et l'impact sur les autres organismes aquatiques était considéré comme étant non existant à très faible^{1,32,3,26,30,91}. Ainsi, dans la note d'instructions n° 14-01 du Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC), concernant le contrôle du Virus du Nil occidental (VNO), on peut lire que « *selon les connaissances actuelles (c'est-à-dire en 2014), l'usage de ces produits (Bti) a peu ou pas d'impact sur la faune* »⁹². Ces conclusions sont basées sur la revue de littérature effectuée par les Québécois Boisvert et Boisvert (2000)³⁰, repris par Lacoursière et Boisvert (2004)¹. Par ailleurs, la page Web sur le *Bti* sur les insectes piqueurs dans le site Web du MELCC^g présente une adaptation de ce dernier document¹. L'absence d'impacts du *Bti* sur les espèces non ciblées, la biodiversité, le fonctionnement des écosystèmes et réseaux trophiques repose en général sur des études effectuées dans les années 1980 jusqu'au début des années 2000. Cette information était utilisée pour l'homologation du produit au Canada et ailleurs

^g <http://www.environnement.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm> ; consulté 20 octobre 2019.

dans le monde. Or, tel que constaté dans le cadre des travaux relatifs à la présente revue de littérature, il existe maintenant de nouvelles approches scientifiques qui permettent de mesurer et d'évaluer les effets sublétaux, les effets indirects, les effets cumulatifs, les formulations, les mélanges dans la nature avec d'autres pesticides, ainsi que les marges de protection à considérer. Ces nouvelles données devraient être prises en compte lors des prochaines homologations et réévaluations de produits. L'homologation pour les biopesticides est appuyée sur des études montrant la faible toxicité à doses élevées. Ainsi, d'autres études plus poussées ne sont pas exigées pour ces produits comme cela est exigé pour les pesticides chimiques, or les pesticides biologiques ne montrent pas nécessairement des courbes dose-réponse uniformes⁹³.

1.4. LE *Bti* ET LES ORGANISMES NON CIBLÉS

Les espèces les plus susceptibles d'être affectées par les formulations de *Bti* appartiennent aux diptères nématocères des familles des Culicidés (moustiques) et des Simulies (mouches noires)¹. Les chironomidés (moucheron) sont aussi des diptères nématocères, mais non piqueurs. Ils constituent le principal taxon non ciblé affecté directement par le *Bti*, car leur physiologie est proche de celle des moustiques^{1,30}. Par ailleurs, *Bti* est utilisé pour des nuisances causées par des chironomes^h. Les chironomidés sont souvent les insectes émergents dominants⁹⁴. Les milieux humides temporaires des plaines inondables et les étangs vernaux sont des sites dans lesquels les larves de moustiques et de chironomidés se développent généralement. Ce sont aussi des habitats importants pour d'autres organismes qui les utilisent pendant leurs premiers stades de vie, tels que les anoues, dont les stades larvaires se nourrissent, entre autres, des larves de moustiques, et éventuellement, de cadavres de larves de moustiques dans lesquels le *Bti* peut être présent suite à des épandages. D'ailleurs, de nouvelles recherches, présentées dans le présent document, suggèrent que l'épandage de certaines formulations commerciales de *Bti* aurait un effet létal sur certains organismes aquatiques non ciblés, ainsi qu'un impact négatif sur les réseaux trophiques et sur le fonctionnement des écosystèmes. C'est dans cette optique que la présente revue de littérature sur les effets directs et indirects de l'épandage de *Bti* a été réalisée.

^h <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/pests/non-biting-midge-chironomids/>

1.5. LES INSECTES PIQUEURS ET LA SANTÉ PUBLIQUE AU QUÉBEC

Certains insectes piqueurs, plus particulièrement les moustiques, peuvent être vecteurs de maladies (tous des zoonoses), tels le Virus du Nil occidental (VNO), le Virus de l'encéphalomyélite équine de l'Est, les virus du séro groupe Californie^{95,96}. Le gouvernement du Québec a adopté en 2013 son « Plan d'intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental »⁹⁷ et en a fait une mise à jour en 2014⁹⁸. Le Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) coordonne les travaux en lien avec la santé publique. Bien que la transmission du virus Zika a été très présente dans l'actualité au cours des dernières années, il n'est pas encore présent au Québec. Nous présentons ici seulement quelques développements récents sur le virus Zika et le VNO.

Il y a encore des lacunes dans les connaissances sur la transmission du virus Zika, surtout en lien avec la propagation vers des régions où ce virus n'a pas encore été introduit tel que le Québec. Le moustique identifié pour la transmission était *Aedes aegypti*. Or, des travaux de modélisation récents indiquent que 35 espèces de moustiques pourraient transmettre le virus Zika⁹⁹. Parmi ces espèces, il y en a 7 que l'on trouve dans le nord des États-Unis continental⁹⁹. Les cartes de distribution montrent que *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens* et *Ae. vexans* se trouvent au Canada^{5,99}. Par ailleurs, *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* ont été observés dans le sud de l'Ontario¹⁰⁰, mais il n'y a pas encore de populations qui se reproduisent au Canada¹⁰¹. *Cx. pipiens* et *Ae. vexans* sont présents au Québec^{99,1}. Ainsi, il est possible que le virus Zika se propage vers le Québec dans le futur, surtout dans le contexte des changements climatiques en cours. Toutefois, une étude récente indique que le potentiel de transmission du virus Zika par *Ae. vexans* est de 1 %¹⁰². En 2017 on a observé un œuf d'*Ae. aegypti* dans un piège au poste frontalier de Saint-Armand dans le sud du Québec, mais rien n'indique toutefois que l'espèce soit établie ici¹⁰³. Par ailleurs, l'exposition répétée des larves d'*Ae. aegypti* à des concentrations sous-létales de *Bti* peut augmenter la résistance et ainsi le risque de transmission de certains arbovirus (*ARthropode-BORne VIRUSes*) tels que le virus de la dengue¹⁰⁴.

Au Québec, de 2002 à 2017, le nombre de cas humains ayant été infectés par le VNO variait de 1 à 45 causant entre 0 et 3 décès par année, sauf en 2012, où 134 personnes ont été recensés avec la maladie dont cinq décès¹⁰⁵. Or, en 2018, il y avait un total de 201 personnes (cas probables et confirmés) infectées incluant 15 décès^{105,106}. Il n'y a pas encore une explication pour cette hausse, qui semble due aux variations des facteurs environnementaux^{107,108}. En 2019, le nombre des cas signalés était de 12, avec aucun décès¹⁰⁹. Les principaux vecteurs de la transmission du VNO à l'humain sont les moustiques du complexe *Cx. pipiens* et *Cx. restuans*. Ces insectes, majoritairement ornithophiles (attirés par les oiseaux) qui se reproduisent tant dans les gîtes naturels que dans les gîtes artificiels (p. ex. les puisards de rue), seraient responsables de l'amplification du VNO dans le cycle oiseau-moustique-oiseau¹¹⁰. La

seconde espèce vectrice du VNO en importance au Québec serait *Ae. vexans*. Le taux d'infection chez ceux-ci est faible, mais leur abondance relative est plus élevée. Ces derniers se reproduiraient en milieu urbain et semi-urbain, principalement dans les gîtes naturels¹¹⁰. Campagna *et al.* (2018)¹¹⁰ ont évalué l'efficacité du traitement des gîtes naturels et artificiels par les larvicides *Bti*, *Ls* et méthoprène au Québec en 2014, afin de contrôler les espèces vectrices du VNO et réduire le risque d'infection par le VNO chez l'humain. Les résultats de l'étude suggèrent que le traitement par larvicides n'a pas eu d'effet sur l'indice vectoriel des *Cx. pipiens/restuans* pendant la période critique au Québec pour la transmission du VNO à l'humain¹¹⁰. Il était cependant difficile de tirer des conclusions en raison de la faible prévalence du VNO chez les moustiques pendant la saison. Quant aux *Ae. vexans*, l'analyse de l'indice vectoriel n'a pas été possible en raison du trop faible nombre de pools positifs¹¹⁰. Depuis 2015, aucune activité d'épandage de larvicides n'est effectuée par le gouvernement du Québec pour contrôler de manière préventive les moustiques vecteurs du VNO¹¹¹.

1.6. OBJECTIF PRINCIPAL DE CETTE REVUE DE LITTÉRATURE

L'objectif principal de cette revue de littérature scientifique est d'évaluer si, selon les publications récentes, l'épandage des formulations de *Bti* pour le contrôle des nuisances causées par les insectes piqueurs est respectueux de l'environnement ou si l'épandage de *Bti* peut avoir un effet direct ou indirect sur la faune, la biodiversité, l'écosystème ou le fonctionnement des réseaux trophiques du Québec.

2. Méthodologie

La recherche dans la littérature scientifique, faite entre 2016 et 2020, a été axée sur l'impact de *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (*Bti*) et *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*) employées à des fins de contrôle des insectes piqueurs, et ainsi diminuer la nuisance qu'ils occasionnent. Les aspects étudiés ont été les suivants :

- Espèces non ciblées et ciblées;
 - Effets directs : effet létal et effets sublétaux;
 - Effets indirects : tel que la diminution d'abondance de nourriture, etc.;
- Fonctionnement et intégrité de l'écosystème;
- Réseau trophique;
- Persistance et prolifération de *Bti* et ses toxines dans l'environnement (*recycling*, en anglais);

- Résistance au *Bti*;
- Aspects sociaux;
- Autres sujets connexes.

Dans cette optique, l'objectif de la revue n'a pas été de faire le bilan des publications sur le contrôle des vecteurs de transmission de maladies, ni sur l'efficacité du *Bti* pour contrôler les populations d'insectes piqueurs, car ces aspects sont traités dans la plupart des publications. En effet, la compilation de 311 publications issues de la littérature publiée entre 1974 et 2010 sur l'utilisation du *Bti* montre que la grande majorité (59 %) traitait de l'efficacité du *Bti*, et 32 % des effets sur la faune non ciblée, 4 % sur la persistance dans l'environnement et 4 % sur les effets indirects par des modifications du réseau trophique (Poulin 2012)⁵². L'agence pour la protection de l'environnement de la Suède a aussi souligné des lacunes dans la recherche concernant les effets indirects sur des espèces non ciblées, ainsi que les modifications potentielles dans le réseau trophique¹¹².

Les principales sources d'information ont été les suivantes :

- Web of Science,
- BioOne,
- Google,
- Google Scholar,
- Research net,
- United States Environmental Protection Agency (EPA),
- Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire du gouvernement du Canada (ARLA),
- European Union.

Par ailleurs, les mots clés suivants ont été utilisés notamment en anglais, en français, en allemand et en néerlandais (liste non exhaustive) :

- *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* - *Bacillus thuringiensis israelensis* - *Bti*,
- *Bacillus sphaericus* - *Lysinibacillus sphaericus* – *Ls*,
- Recherche par nom d'auteur,
- Nom des formulations,
- Non target species, non target organisms,
- Impact direct, indirect ou cumulatif,
- Mosquito, blackfly, midge, contrôle, insectes piqueurs, moustique, similies, mouche noire, maringouin, moucheron,
- Écosystème - ecosystem,
- Foodweb – réseau trophique,

- Groupe d'organismes (par exemple : oiseaux, chauve-souris),
- Toxic - toxique,
- Biological control,
- Ecological services,
- Valeur non marchande des services écologiques,
- Résistance, resistance,
- Persistance, recyclage, recycling.

Pour la présente analyse de la littérature scientifique, l'emphase a été mise sur l'utilisation des différentes formulations de *Bti* pour le contrôle des moustiques, car leur utilisation est notablement plus répandue que celle des formulations à base de *Ls*. De plus, il y a beaucoup plus de publications sur le contrôle des moustiques que sur le contrôle des mouches noires, probablement car ces derniers sont moins importants comme vecteurs de maladies pour les humains et n'en transmettent pas aux humains en Amérique du Nord et en Europe.

Aucune restriction sur la date des publications n'a été considérée. Toutefois, les études publiées depuis 2000 ont davantage retenu notre attention. La littérature grise n'a pas été exclue. Des documents non disponibles sur Internet ont été obtenus, quand il a été possible, par la bibliothèque du Ministère (notamment, des thèses de doctorat ou de maîtrise faites en Allemagne).

Un des éléments clés dans la réalisation d'une analyse écotoxicologique est la concentration d'exposition du composé évalué comme étant toxique pour les organismes. La composition des formulations présentes sur le marché canadien et ailleurs est toutefois considérée comme un secret industriel. Les études sur les interactions entre le *Bti* et d'autres pesticides sont extrêmement rares. Dans la littérature, plusieurs unités pour décrire le dosage sont utilisées, telles que µg/l, mg/l ou ppm, l/ha, spores/ml, pints/acre, kg/ha, lbs/acre ou encore 1 tablette par 13,2 gallons (50 l). De plus, la puissance biologique (*potency* en anglais) c.-à-d. les concentrations de *Bti* des formulations, indiquées en *International Toxic Units* (ITU), peut varier énormément. Ainsi, pour les différentes formes de VectoBac, la toxicité du produit va de 200 ITU/mg à 5000 ITU/mgⁱ. Il n'y a pas toujours de distinction entre les termes « dosage », « concentration finale » (g/l), « dose », « taux d'application » (kg/ha et l/ha) et « toxicité » (ITU) dans la littérature. Aussi, certaines études utilisent des cultures de *Bti* « maison » sans préciser clairement la concentration utilisée¹¹³. En conséquence, les résultats des différentes études sont difficilement comparables.

ⁱ [<https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/>; consulté le 17 juillet 2019.]

Afin de pouvoir comparer les concentrations et les doses de *Bti* utilisées lors d'expériences en laboratoire ou sur le terrain selon les formulations utilisées, les unités originales des doses et des concentrations trouvées dans les publications ont été ramenées à des unités communes (Carbrera 2018¹¹⁴). Ce travail visait ultimement la comparaison des dosages de *Bti* des études avec les taux d'application des produits utilisés pour l'épandage au Québec¹¹⁴. Deux unités, basées sur des Unités toxiques internationales (ITU) ont été utilisées dans la comparaison des études : ITU/l et ITU/m². Ce rapport¹¹⁴ est présenté à l'annexe 1. Pour la comparaison des éventuels impacts des composantes ajoutées aux différentes formulations, les unités de concentrations d'origine telles qu'utilisées dans les publications sont présentées conjointement.

La crédibilité du système d'homologation des produits antiparasitaires est affectée (CAPERN 2020¹¹⁵), surtout depuis qu'il y a eu des révélations concernant l'influence de l'industrie sur ce processus¹¹⁶. On observe que l'industrie fournit de nouveaux produits antiparasitaires, qui ne sont pas nécessairement moins nocifs, aussitôt qu'on a démontré qu'un pesticide, par exemple les néonicotinoïdes, affecte l'environnement, l'homologation est retirée ou l'utilisation est restreinte¹¹⁷. Aussi, l'utilisation des semences enrobées de néonicotinoïdes n'était pas utile au Québec¹¹⁸. Cette situation a mené à la consultation publique en 2019 par la Commission de l'agriculture, des pêcheries, de l'énergie et des ressources naturelles (CAPERN) afin d'examiner les impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement, ainsi que les pratiques de remplacement innovantes disponibles et à venir dans les secteurs de l'agriculture et de l'alimentation, et ce en reconnaissance de la compétitivité du secteur agroalimentaire québécois¹¹⁹. À l'occasion des travaux de cette commission, plusieurs mémoires en lien avec l'utilisation du *Bti* ont été déposés par des citoyens^{120,121} ainsi que par l'industrie¹⁵. Dans ce contexte, par exemple, Sauvé (2019)^{122,123}, l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ 2019)¹²⁴ et l'Institut national de la recherche scientifique (INRS 2019)¹²⁵, notamment, plaident pour que les réglementations environnementales se basent sur des études indépendantes pour évaluer les impacts potentiels des pesticides sur la santé et l'environnement. Nous identifions dans cette revue de littérature, si possible, que les résultats sont présentés par des chercheurs et des chercheuses indépendantes ou avec des liens avec l'industrie. Bien sûr, il est primordial de maintenir une rigueur scientifique exemplaire quand cette variable est ajoutée, car il est possible d'induire des erreurs liées à ce biais. Par ailleurs, un groupe de travail en Europe prépare présentement une publication sur les impacts de l'épandage de *Bti* et les liens des auteurs avec l'industrie (Land *et al.* 2019⁷⁸).

Les publications sur l'impact du *Bti* sur l'écosystème proviennent de partout dans le monde, mais les suivis sur les effets du *Bti* à long terme ne sont pas abondants. Deux études à « long terme » ont été trouvées et sont présentées comme études de cas :

- a) Suivi environnemental et sociologique dans le Parc naturel régional de Camargue en France par des scientifiques indépendants de l'organisme qui effectue le contrôle des moustiques. Il s'agit ici des observations écologiques continues sur une période de 11 ans¹⁵⁶;
- b) Publications en lien avec le programme de contrôle des moustiques dans la vallée du Rhin en Allemagne. Il s'agit d'études réalisées par des employés du KABS sur les impacts à court terme de l'utilisation de *Bti* échelonnée sur plus que 30 ans, mais aucun suivi des impacts à long terme des différentes composantes des écosystèmes traités¹²⁶.

Toutes les autres publications ont été regroupées et comparées avec les études de cas, ceci selon les caractéristiques des formulations du *Bti*, les organismes affectés (insectes, oiseaux insectivores, chauves-souris, amphibiens, poissons). D'autres sujets traités sont l'effet sur les réseaux trophiques ainsi que le fonctionnement des écosystèmes, le phytoplancton, les communautés microbiennes et les cycles biogéochimiques, ainsi que la persistance et le recyclage du *Bti* ou encore les méthodes alternatives au *Bti* pour le contrôle d'insectes piqueurs. L'information a été synthétisée et analysée. Les lacunes concernant les effets de l'utilisation du *Bti* au Québec ont été identifiées. Une étude sociologique portant sur la gouvernance et sur les recours juridiques par des groupes environnementaux faits pour le cas du parc de la Camargue, en France, est aussi présentée de même que des aspects économiques. Finalement, les conclusions générales de la revue de littérature contiennent des suggestions pour des études supplémentaires sur l'utilisation du *Bti* au Québec, ainsi que sur les approches futures pour le contrôle de diptères nuisibles.

3. Formulations de *Bti* et *Ls* et synergies avec autres contaminants

Il existe plusieurs produits à base de *Bti*. Depuis leur introduction sur le marché, ces produits ont évolué dans le temps et l'utilisation d'une formulation plutôt qu'une autre dépend surtout du milieu visé. Ainsi, il existe notamment des formulations aqueuses, granulaires, en poudre et en tablettes flottantes (tableau I; voir annexe 1 pour plus de détails). Les formes « pures » de *Bti* (100 %) sont VectoBac TP¹²⁷ et Aquabac OSF¹²⁸ (Tableau 1). À partir de ces produits sont préparées les différentes formulations. Aucune de ces formulations à base de *Bti* n'est du « *Bti* pur », car il n'est jamais appliqué sans adjuvants. Le terme « adjuvant » décrit un additif, autre que l'ingrédient actif, présent dans la formulation d'un pesticide¹²⁹. Les adjuvants peuvent être des surfactants, des allongeurs-adhésifs, des huiles concentrées, des agents antimousses, des agents tampons et des agents de compatibilité. Par exemple, les surfactants changent la capacité des liquides à adhérer à des surfaces ou pénétrer dans les liquides. Ils peuvent faciliter et même accentuer l'émulsion, la dispersion,

l'expansion, ou d'autres propriétés des liquides¹²⁹. La toxicité des additifs ou celle des formulations avec des adjuvants est parfois plus importante que celle de l'ingrédient actif pris isolément⁸³.

3.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Peu d'études ont eu accès au « *Bti* pur ». Les étiquettes de formulations VectoBac WDG¹³⁰, VectoBac DT¹³¹ et Mosquito Dunks¹³² (tableau I) indiquent que ces produits contiennent des solides de fermentation, des spores et des toxines insecticides. Par exemple, Maletz *et al.* (2015)¹³³ ont examiné le VectoBac® TP (poudre technique : 5000 ITU/ml). Ce composé montre une activité oestrogénique^j, qui est probablement liée aux conditions de production dans le réacteur de culture dans lequel on ajoute de la farine de poisson ou du soja (« *fermenter slurry* »)¹³³. Les auteurs de cette étude mentionnent que le VectoBac TP est rarement utilisé¹³³. En effet, KABS n'utilise pas plus de 32 kg par an de ce produit dans toute la région de la vallée du Rhin et le dosage est à peu près de 400 g/ha (comm. pers. Norbert Becker dans¹³³). Ainsi, en principe, les faibles concentrations de VectoBac TP dans l'écosystème ne devraient pas avoir d'effet oestrogénique sur les organismes.

Les fabricants n'ont pas l'obligation d'afficher la composition complète des formulations à base de *Bti* puisque la recette peut être considérée comme un secret industriel, tel qu'indiqué sur les fiches de données de sécurité. À titre d'exemple, le VectoBac WDG contient 37,4 % de *Bti* et 62,7 % « d'autres ingrédients »¹³⁰. Le VectoBac 1200L et VectoBac AS contiennent 11,61 % de *Bti*, 0,10 % de Proxel GXL (sensibilisant cutané) et 88,29 % d'autres ingrédients¹³⁴ et VectoBac 200G contient 97,2 % d'autres ingrédients¹³⁵. Ces « autres ingrédients » sont considérés comme inertes par l'industrie, ARLA, EPA, etc.

Bien qu'ils soient secrets, l'entreprise Valent Biosciences a fourni les détails de la composition complète des formulations de *Bti* (VectoBac TP et WDG) à Maletz *et al.* (2015)¹³³ afin de tester ces produits pour des effets potentiels sur le système endocrinien. Les formulations contenaient, en plus de la substance active, six adjuvants¹³³, mais les auteurs n'ont pas révélé leur composition. Ainsi, les effets toxiques rapportés par certaines études pourraient être attribuables à ces adjuvants plutôt qu'au *Bti* lui-même. Par exemple, Wipfli *et al.* (1994)¹³⁶ n'ont pas observé d'impact du *Bti* (Teknar; tableau I) sur des jeunes stades de salmonidés, sauf quand les concentrations d'exposition (1 873 200 à 2 785 200 ITU/l durant 15 min à 48 h, voir annexe 1) dépassaient largement les taux d'application recommandés (1 200 ITU/l pendant 1 à 15 min). La mortalité observée était liée aux composantes de la formulation autres que les toxines de *Bti* (voir section 9). Par ailleurs, Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ ont démontré que la toxicité d'Introban (tableau I) augmente avec la dose pour les stades larvaires de

^j Effet perturbateur endocrinien.

la grenouille sud-américaine commune, *Leptodactylus latrans* (Anura : Leptodactylidae). Ils ont aussi observé plusieurs effets au niveau physiologique sur cet anoure (voir section 8). L'auteur mentionne qu'il n'a pas été possible de différencier dans l'étude les effets du *Bti* de ceux des adjuvants de la formulation d'Introban (comm. pers. 11 juillet 2016, Rafael Lajmanovich). La toxicité de VectoLex WDG sur des larves du 4^e stade du chironome *Chironomus tepperi* (Diptera : Chironomidae) semble être due aux ingrédients présents dans la formulation autre que le *Ls*¹³⁸. En effet, la toxicité était similaire entre un échantillon de la formulation originale et un échantillon stérilisé dans un autoclave¹³⁸.

Il est important de noter que les formulations de pesticides auxquels les organismes sont exposés dans les écosystèmes contiennent toutes des adjuvants^{139,140} et que les mélanges des formulations peuvent résulter en effets additifs, synergiques et antagonistes, même à de très faibles doses¹⁴¹. C'est aussi le cas pour le *Bti*. Bien que le VectoBac (concentré émulsifiable) ne soit pas toxique pour le choquemort, *Fundulus heteroclitus* (Cyprinodontiformes : Fundulidae), le mélange de *Bti* et de fenoxycarb (insecticide carbamate), augmente la toxicité envers ce fenoxycarb¹⁴².

Des larves (stade 4) de *Culex pipiens* ont été exposées pendant 2 jours au *Bti* (VectoBac WG, 70 µg/l), à l'insecticide chlorpyrifos (0.65 µg/l) ou aux deux pesticides combinés (à des concentrations que l'on peut observer *in situ*), en plus, il y avait des variations journalières de température (7 et 14 °C avec température moyenne 20 °C) comme observée dans la nature (Delnat *et al.* 2019¹⁴³). La mortalité des larves exposées à la combinaison des deux pesticides montrait un effet additif quand il n'y avait pas des variations journalières de température ou une variation de 7 °C¹⁴³. Par contre, une variation journalière de 14 °C résulte en une augmentation synergique et significative de mortalité¹⁴³. Le temps de développement des femelles montre des effets antagonistes avec une variation de température journalière de 7 °C et des effets additifs sans variation de température ou une variation de 14 °C¹⁴³. La longueur d'aile des femelles, qui est un indice de fécondité, n'était pas modifiée par la présence de *Bti*¹⁴³. Par contre, la combinaison des deux pesticides montre des effets antagonistes avec une variation de température journalière de 7 °C et des effets additifs sans variation de température ou avec une variation de 14 °C, résultant en une augmentation de la taille de l'aile¹⁴³. Il n'y a présentement pas d'obligation d'inclure les variations de température journalière réalistes pour obtenir l'homologation des pesticides.

L'herbicide atrazine réduit la mortalité de larves de 4^e stade du moustique *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) (exposition à 1 - 1000 µg/l d'atrazine pendant 6 à 48 h) traités avec Bactimos WP¹⁴⁴ (i.e. 1 000 et 2 500 ITU/l), c.-à-d. que l'atrazine augmente la résistance des organismes ciblés au *Bti* (voir section 13). Le mode d'action n'est pas connu, mais Boyer *et al.* (2006)¹⁴⁴ suggèrent que

l'augmentation/ des enzymes détoxifiants pourrait augmenter cette résistance, telle qu'observée chez d'autres insectes.

L'atrazine est un herbicide très utilisé au Québec qui, dans les échantillons d'eau prélevés dans les cours d'eau agricoles en 2014, a été détecté dans 98 % des cas avec des concentrations allant jusqu'à 13 µg/l¹⁴⁵. Entre 2013 et 2016, dans des zones de vergers et de cultures maraichères, l'atrazine a également été détecté dans presque tous les échantillons avec une concentration maximale de 15 µg/l¹⁴⁶. L'insecticide chlorpyrifos est aussi présent dans ces cours d'eau, dépassant souvent le critère de qualité de l'eau^{145,146}. L'atrazine est également présent dans le fleuve Saint-Laurent¹⁴⁷ et même dans l'eau potable de villes comme Toronto et Montréal¹⁴⁸. Ainsi, il s'agit d'un pesticide qui peut se retrouver facilement dans des milieux humides en zone agricole, ainsi que dans les zones inondables le long du Saint-Laurent et de ses tributaires, où il pourrait induire une résistance des larves de moustiques présentes dans le milieu au *Bti*.

D'autres pesticides sont aussi omniprésents dans des cours d'eau agricoles, dans le Saint-Laurent et dans le lac Saint-Pierre, tels que le néonicotinoïde imidaclopride^{145,149}. Cet insecticide très persistant est connu pour causer des effets négatifs sur les chironomes ainsi que sur les simuliés¹⁵⁰. De plus, Yamamuro *et al.* (2019)¹⁵¹ ont montré que les chironomides : *Chironomus plumosus* et *Tanytarsus* spp., ainsi que d'autres organismes aquatiques (benthiques et pélagiques) ont disparu de l'écosystème lacustre après l'introduction des néonicotinoïdes dans l'agriculture dans le bassin versant en 1993. Ces pesticides sont présents dans les environnements aquatiques au Canada à des niveaux toxiques pour ces insectes^{145,149,150}. Ainsi, dans les zones d'épandage de *Bti* d'autres pesticides peuvent déjà avoir eu des impacts sur les populations de ces insectes aquatiques.

De plus, de nouvelles formulations de *Bti* pour le contrôle des moustiques pourraient avoir des impacts différents sur l'écosystème. Par exemple, deux bactéries utilisées comme bio-insecticides, *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), ont le potentiel de produire et de relâcher des métabolites secondaires qui peuvent jouer un rôle majeur dans la pathogénicité suite à la suppression du système immunitaire des insectes cibles (Park *et al.* 2016)¹⁵². La combinaison de ces bactéries avec le *Bti* résulte en une augmentation de l'efficacité pour le contrôle des larves d'*Ae. albopictus* et de *Cx. pipiens*¹⁵². Les auteurs ont créé une nouvelle formulation, le « Dip-Kill », qui contient 80 % de milieu de culture de *X. nematophila*, 10 % de *Bti* (10¹⁰ spores/ml) et 10 % d'éthanol (agent de conservation)¹⁵². Ce nouveau produit est plus efficace que le *Bti* à la dose recommandée¹⁵². Or, ils ne présentent aucun test sur l'impact direct ou indirect de ce nouveau produit sur des espèces non ciblées ni sur l'écosystème ou le réseau trophique. Ce produit ne semble toutefois pas encore

commercialisé¹⁵². Les briquettes Fourstar^k (1 % et 70 ITU/mg *Bti*, 6 % et 60 ITU/mg *Ls*) ont récemment été développées. Elles relâchent lentement les larvicides pour des périodes allant jusqu'à 180 jours (*long lasting microbial larvicides*) pour le contrôle de vecteur de malaria¹⁵³. Derua *et al.* (2018)¹⁵⁴ n'ont pas observé de modifications significatives dans l'abondance d'organismes aquatiques non ciblées pendant une période de 21 semaines (une briquette Fourstar ou LL3 [même composition que Fourstar, mais flottant] par 9,3m²) dans des sites propices au développement de larves de moustiques au Kenya. Or, les auteurs ne font pas mention d'analyse de l'impact sur les chironomes, les macroinvertébrés benthiques ou les relations trophiques dans leur étude¹⁵⁴.

Plusieurs publications mentionnent que la concentration de *Bti* utilisée était conforme au dosage indiqué sur l'étiquette. Or, ces dosages sont parfois différents selon la source d'information consultée. Par exemple pour VectoBac AS, la concentration indiquée sur le site Web du fabricant est de 0,3 à 2,3 litres/hectare^l, de 0,25 à 1,0 l/ha sur l'étiquette et il est indiqué d'augmenter le dosage dans les eaux profondes, très froides ou polluées et lorsque la majorité des larves sont à la fin du 3^e et au 4^e stade larvaire^m. Toutefois, il n'y a pas de définition claire des termes « eau profonde », « froide » et « eau polluée », ni de mention sur la concentration limite (*in situ*) à ne pas dépasser sur l'étiquette. Par exemple, le site Web de Valent Biosciences précise « eau polluée » : étang d'épuration ou réservoir de lisier. Pour ce qui est de l'épandage aérien dans les marais et marécages, il est peu probable que la profondeur des plans d'eau soit connue, ainsi la concentration finale du produit est plutôt approximative (voir aussi Annexe 1). Aussi, il n'y a pas d'indication sur la fréquence des applications pour le contrôle des insectes piqueurs sur les étiquettes. De plus, il n'y a pas nécessairement une corrélation entre la concentration du produit et sa performanceⁿ.

Contrairement aux moustiques, les simules se développent dans des eaux courantes. Ainsi, la technique d'application du *Bti* devrait donc être différente pour le contrôle des mouches noires et celle utilisée pour le contrôle des moustiques. Idéalement, le *Bti* doit former un « nuage » uniforme qui

^k <https://www.centralmosquitocontrol.com/all-products/fourstar>; consulté 12 août 2019.

^l <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Aqueous>; consulté 17 juillet 2019. <https://publichealth.valentbiosciences.com/products/vectobac/aqueous>

^m <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/04/vectobac-1200L-specimen-label.pdf>; consulté 17 juillet 2019. Par ailleurs, tout utilisateur de pesticides doit suivre les directions de l'étiquette, car elle fait foi de Loi (fédéral).

ⁿ Sur les étiquettes des formulations en vente aux États-Unis on trouve des mentions « The percent active ingredient does not indicate product performance and potency measurements are not federally standardized » (<https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/02/tekmar-cg-specimen-label.pdf> et <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/02/vectobac-wdg-specimen-label.pdf>; consulté 17 juillet 2019) et « There is no direct relationship between intended activity (potency) and the percent Active Ingredient by Weight » (<https://www.valentbiosciences.com/publichealth/wp-content/uploads/sites/4/2017/04/vectobac-sup-sup-12as-specimen-label.pdf>; consulté 17 juillet 2019). Toutefois, ces mentions ne se trouvent pas sur les exemples des étiquettes pour le Canada.

reste en contact avec les larves pendant au moins 1 ou 10 min¹⁵⁵. Ce « nuage » de *Bti* se déplace vers l'aval avec le courant et l'application doit être répétée quand la concentration diminue due à la sédimentation ou la dilution. La dose d'application du *Bti* est en fonction du débit du cours d'eau et de la quantité de la formulation requise pour atteindre une concentration de 0,05 à 2,5 mg/l pendant 10 min ou 0,5 à 25 mg/l pendant 1 min^{155,156} (c.-à-d. un temps de contact de 0,5 à 25 min-mg/l⁰). Comme mentionné ci-haut pour le contrôle de moustiques, les dosages recommandés sont imprécis selon la nature du milieu où il est appliqué, puisqu'il faut augmenter la dose si l'eau est polluée ou boueuse, ou si la température de l'eau est relativement froide (7 °C à 10 °C)^{155,156}.

La fréquence d'épandage de *Bti* tant pour le contrôle des moustiques ainsi que les mouches noires est variable et dépend de la présence des larves de ces insectes dans les plans d'eau. L'étendue des zones à traiter est aussi variable et elle dépend, après la période de la fonte de neige et la crue printanière, de la pluviométrie, c.-à-d. la répartition et l'intensité des pluies dans l'espace et dans le temps. Au Québec ça se traduit par exemple pour la municipalité de Shawinigan en 2017 en huit traitements pour les moustiques entre le 27 avril et le 29 août, dans des milieux humides, et autant de traitements pour les mouches noires dans des milieux lotiques, entre le 26 avril et le 26 août. Ces traitements ont généralement été espacés de 14 jours (GDG Environnement 2017¹⁵⁷).

⁰ Les unités de concentration de la formulation utilisées pour le contrôle des mouches noires sont généralement min-mg/l ou mg/l min.

Tableau I. Principales formulations à base de *Bti* et de *Ls* utilisées pour le contrôle des insectes piqueurs disponibles sur le marché mondial, et utilisées au Québec pour des opérations de grande envergure (X) ou en vente libre (L). Les taux d'application recommandés sont présentés dans l'annexe 1.

Nom commercial	Qc	Formulation	Souche de <i>Bt</i> ¹	Puissance	Fabricant
VectoBac 1200L	X	Suspension aqueuse, aussi connue sous SC (Suspension concentrée)	<i>Bti</i> AM65-52	1 200 ITU/mg	Valent Biosciences ^a
VectoBac AS				3 000 ITU/mg	
VectoBac WG, WDG		Granules dispersables dans l’eau		200 ITU/mg	
VectoBac G, GS et GR		Granules		2 200 ITU/mg	
VectoBac 200G	X			5 000 ITU/mg	
VectoBac DT		Tablettes		1 200 ITU/mg	
VectoBac TP		Technical Powder (100 % <i>Bti</i>)		200 ITU/mg	
Teknar SC		Suspension aqueuse	<i>Bti</i> SA3A	800 ITU/mg	
Teknar CG et G		Granules	<i>Bti</i> AM65-52	3 000 ITU/mg	
Bactimos PT		Pellets (pour le contrôle des chironomes)		3 000 ITU/mg	
Bactimos WG		Granules dispersables dans l’eau (pour le contrôle des chironomes)	<i>Bti</i> AM65-52 combiné avec du (S)-méthoprène.	3 000 ITU/mg	
VectoPrime FG		Granules fins	<i>Bti</i> AM65-52 combiné avec <i>Ls</i> ^b 2362 (souche ABTS-1743)	<i>Ls</i> 50 ITU/mg	
VectoMax FG		Granules fins	<i>Ls</i> 2362 (souche ABTS-1743)	<i>Ls</i> 50 ITU/mg	
VectoLex CG, FG, WSP	X	Granules, sacs solubles dans l’eau		<i>Ls</i> 650 ITU/mg	
VectoLex WDG		Granules dispersables dans l’eau	<i>Bti</i> AM65-52 ^c	3 000 ITU/mg	
Gnatrol WDG		Granules dispersables dans l’eau	?	1 200 ITU/mg	
Introban ^d		Suspension aqueuse ¹⁵⁸	?	7 000 ITU/mg	Summit chemical ¹⁶⁰
Introban anillos		Tablettes flottantes ¹⁵⁹	<i>Bti</i> BMP 144	3,2 milliards ITU/lb ou 7055 ITU/mg	Becker Microbial Products Inc. ¹⁶¹
Aquabac ^{tt} OSF		Poudre primaire (100 % <i>Bti</i>)		1 200 ITU/mg	
Aquabac xt	X	Suspension aqueuse		7000 ITU/mg	
Aquabac 200G	X, L	Granules		400 ITU/mg	
Aquabac 400G		Granules		7000 ITU/mg	
Aquabac DF 3000		Solides granulaires		7000 ITU/mg	
Mosquito Dunks	L	Tablettes flottantes		7000 ITU/mg	Summit chemical ¹³²
Mosquito Bits	L	Granules d’épis de maïs	7000 ITU/mg		

a : Probablement le plus important fabricant et distributeur de formulations à base de *Bti* pour le contrôle des insectes piqueurs. Ces formulations ont toutes leurs applications et leurs usages spécifiques¹⁶²

b : *Lysinibacillus sphaericus*

c : Identique à Vectobac WDG⁵³ pour le contrôle des larves de mouches de terreaux (*fungus gnat*; Diptera : Sciaridae) et des larves de mouches de champignons (Diptera : Sciaridae), en culture biologique; fabricant Valent Biosciences <https://nufarm.com/usturf/product/gnatrol-wdg/>; consulté le 10 juillet 2020.

d : Commercialisé en Argentine, Bolivie et Uruguay¹⁵⁸. Suspension aqueuse similaire à VectoBac AS (puissance et taux recommandés; fabricant Valent Biosciences^{137,163}).

<https://www.ppm.com.ar/chemotecnica/introban.html>

3.2. CONCLUSIONS

La toxicité directe ou indirecte des différentes formulations à base de *Bti* ne varie pas seulement en fonction de la puissance biologique c.-à-d. les concentrations des souches utilisées. Les adjuvants présents dans ces produits peuvent aussi contribuer, voire à expliquer certains effets sur l'écosystème qui sont présentés dans sections les suivantes. Ces adjuvants ne sont pas connus (secrets industriels) et généralement, il n'est pas possible de différencier la toxicité du *Bti* de la toxicité que ces composés auraient sur les organismes ciblés et non ciblés. Dans ce contexte, il serait justifié que les exigences d'homologation s'adaptent pour ces produits biologiques et soient faites sur une base d'effets cumulatifs, comme indiqué dans la section 1.3. « Homologation ». Ceci implique aussi que la liste des adjuvants utilisés et leurs concentrations devraient être communiquées afin que des études écotoxicologiques indépendantes puissent être entreprises. De plus, les effets additifs, synergiques et antagonistes des formulations de *Bti* avec d'autres pesticides, notamment avec les pesticides agricoles qui se trouvent aussi dans les milieux humides visés par les épandages de *Bti*, ne sont généralement pas connus et ceci ajoute une complexité supplémentaire dans l'évaluation de l'impact de cet insecticide sur l'écosystème. Au Québec, le risque d'interactions entre les formulations de *Bti* et d'autres pesticides devrait être évalué.

Finalement, étant donné que les conditions d'application des formulations de *Bti* ne sont pas préalablement définies, telles que la température, la nature de la pollution et la profondeur de l'eau, il est difficile de prévoir la concentration finale du produit dans l'eau en relation avec son efficacité. Par ailleurs, la présence des compétiteurs pour la nourriture (p.ex. des daphnies) influence la disponibilité de *Bti* pour les larves de moustiques ou de simuliés. De plus, la présence des prédateurs peut modifier l'efficacité du traitement (voir section 7.1). Enfin, des erreurs commises par le pilote d'aéronef¹²⁶, ou lors du traitement manuel à partir du sol, voire pendant la préparation de ces produits, peuvent influencer la concentration finale prévue. Ainsi, la prévision des effets de ces produits dans les milieux humides est complexe¹⁶⁴.

4. *Persistance et prolifération du Bti*

Lors de la production industrielle des formulations de *Bti*, les toxines ne sont pas séparées des spores. Ainsi, suite à l'épandage, ces spores viables peuvent germer quand les conditions deviennent favorables dans la nature (p. ex. dans les cadavres de larves de diptères, car c'est une bactérie nécrotrophe²²). Ces

bactéries se multiplient, consomment des éléments nutritifs et quand les conditions deviennent défavorables (p. ex. par manque des éléments nutritifs), les cellules créent des nouvelles spores avec les cristaux toxiques²². Ce processus peut se répéter (recyclage). Ainsi, les bactéries et les spores peuvent persister, voire proliférer dans l'écosystème. Par ailleurs, il n'y a pas de mention dans la littérature que le *Bti* 'naturel' (ou indigène) a été détecté au Québec¹. De plus, même s'il s'agit de l'utilisation de la même espèce, la souche isolée dans le désert du Negev et qui est utilisée pour l'épandage n'est fort probablement pas la même que celle qui pourrait être présente dans les milieux humides traités au Québec. L'épandage est donc susceptible d'introduire une nouvelle souche qui pourrait remplacer les organismes indigènes présents naturellement⁵⁷. Par ailleurs, l'introduction et le remplacement des souches naturelles par des souches non indigènes (exotiques) au sein d'une espèce ou d'un écosystème vont à l'encontre de la Convention sur la biodiversité (UN 1992)⁵⁷. De plus, les bactéries s'échangent régulièrement des parties de leur génome. Conséquemment, les gènes des toxines de *Bt* peuvent se retrouver dans d'autres espèces qui peuvent être moins sélectives que le *Bti*, qui est nécrotrophe, permettant ainsi la multiplication de la quantité de toxines présente dans la nature.

4.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

La littérature est contradictoire quant à la persistance et à la prolifération (recyclage) du *Bti* dans l'environnement suite aux épandages. Ce phénomène de recyclage du *Bti* dans l'environnement a été observé dans des études de terrain^{165,45} et de laboratoire^{166,47}. De plus, Tetreau *et al.* (2012)⁴⁵ concluent que la production de nouvelles spores provoque aussi la production de nouveaux cristaux de toxines. Les auteurs ont aussi démontré la persistance différentielle des toxines du *Bti* dans la nature. Les Cry4 sont plus persistantes que les Cry11, lesquelles persistent plus que les Cyt⁴⁵.

Bacillus thuringiensis (*Bt*) est une bactérie pathogène omniprésente dans les sols. Elle fait partie du groupe *B. cereus* (*Bcg*), bactérie connue par sa pathogénicité pour les mammifères, incluant l'humain. Ces deux bactéries se trouvent naturellement dans l'environnement. En Suède, l'effet des épandages aériens faits avec VectoBac-G (taux d'application 13-15 kg/ha = 260 000 – 300 000 ITU/m²) entre 2001 et 2012, sur la structure des communautés indigènes du groupe *Bacillus cereus* (*Bcg*) et sur l'abondance globale de *Bti*, a été étudié^{167,168}. Dans tous les sites et les habitats étudiés, les épandages de *Bti* n'ont pas montré d'effet sur l'abondance de *Bcg*, mais l'abondance de *Bti* était plus élevée dans les sites traités que dans les sites témoins¹⁶⁸. Schneider *et al.* (2017)¹⁶⁸ indiquent que le *Bti* ajouté dans l'environnement a probablement

influencé la population totale de *Bti* à court terme, mais qu'elle aura un effet limité à long terme¹⁶⁸. Ils ajoutent qu'il est improbable que dix ans d'utilisation de *Bti* dans les plaines inondables de la rivière Dalälven aient changé les abondances naturelles de *Bti* et de *Bcg* à un degré qui pourrait affecter de façon permanente les diptères ou les autres organismes non ciblés¹⁶⁸. Toutefois, cette étude n'a pas évalué directement l'effet des épandages sur des organismes non ciblés.

Becker (2002⁵⁰; employé de KABS) observe dans des zones de la vallée du Rhin, mais en France, jusqu'à 700 000 à 44 000 000 spores de *Bti* par gramme de sédiment dans les zones où les épandages ont été faits 2 fois par an avec du *Bti* – non irradié en contraste avec généralement zéro ou moins de 100 000 spores de *Bti* par gramme de sédiment dans les zones où les épandages ont été faits avec du *Bti* – irradié (en Allemagne).

Selon une étude réalisée en Suisse, le nombre de spores de *Bti* dans la boue est resté similaire pendant une période de neuf mois suite aux épandages¹⁶⁹. Les auteurs indiquent que l'absence d'augmentation du nombre de spores de *Bti* témoigne de la sécurité environnementale de cet insecticide¹⁶⁹. Une autre étude, réalisée dans des milieux humides de la réserve naturelle Bolle di Magadino en Suisse, a montré que le nombre de spores de *Bti*, soit la fraction des spores de *Bti* sur le total des spores *Bt* plus les spores *B. cereus*, était élevé suite à deux applications rapprochées et diminuait graduellement par la suite¹⁷⁰. Le traitement (1x) effectué l'année suivante a de nouveau augmenté le nombre de spores de *Bti* à des densités similaires à celles de l'année précédente¹⁷⁰. Dans une étude réalisée sur deux sites différents en France, dans la région Rhône-Alpes et en Méditerranée, aucune production de nouveaux spores ou cristaux toxiques (recyclage) n'a été observée. Toutefois, la persistance des spores serait plus longue dans des substrats contenant de la matière organique¹⁷¹. Selon Mudgal *et al.* (2013)¹⁷², le *Bti* a un effet direct très spécifique et sa persistance ne devrait pas causer de problèmes environnementaux majeurs, sauf dans le cas d'une exposition prolongée de l'espèce cible qui peut favoriser le développement de résistance¹⁷². Par contre, les auteurs ne mentionnent pas que l'accumulation de spores et de toxines puisse impacter des espèces non ciblées comme les chironomes.

Une autre étude faite en Suisse a montré que les spores de *Bti* (VectoBac-G) persistent dans les sols des milieux humides de la réserve naturelle Bolle di Magadino, où des épandages ont été faits régulièrement de 1988 à 2009 (Guidi *et al.*, 2011¹⁷³). La distribution des spores dans le sol des différentes zones topographiques des sites de reproduction de moustiques, laquelle n'est pas homogène, est dépendante du nombre de traitements de *Bti* qui ont été faits¹⁷³. Toutefois, ces spores n'ont pas été déplacées vers d'autres sites, même après des inondations qui ont eu lieu entre l'automne et le printemps¹⁷³. Dans

certaines sites, il y a eu une augmentation de spores dans le temps. Mais l'étude n'a pas permis de déterminer si l'augmentation de ces spores a été le résultat de la multiplication après l'épandage ou une conséquence des épandages répétitifs¹⁷³. Les auteurs ont conclu que même si la germination et la prolifération des spores se produisent dans l'environnement, on peut assumer qu'il s'agit d'une proportion mineure, car en général, leur nombre total est réduit dans le temps¹⁷³. De plus, il serait probable que l'impact des facteurs abiotiques telle que l'irradiation UV, sur la concentration de spores, soit plus important que la germination et la multiplication des cellules de *Bti*¹⁷³.

Contrairement aux études précédentes, d'autres recherches ont démontré que le *Bti* peut persister et proliférer dans les écosystèmes. Dans la région de la Camargue (voir section 5.1), des densités élevées de spores de *Bti* issues de la formulation VectoBac 12AS, ont été associées à la présence de matière organique dans le substrat¹⁷⁴. En effet, la densité de spores de *Bti* est maximale et significativement plus élevée dans les jonchaies que dans tout autre type d'habitat¹⁷⁴. Les densités de spores de *Bti* sont intermédiaires dans les roselières et les scirpaies, et elles sont significativement inférieures à celles de tous les autres types d'habitats dans les sansouires¹⁷⁴. Spécifiquement, une diminution rapide de la densité des spores de *Bti* a été observée suite au dernier traitement de l'année dans les sansouires, tandis que le nombre de spores dans les roselières, les scirpaies et les jonchaies augmente progressivement et de façon significative dans tous ces habitats (à l'exception des jonchaies où le nombre d'échantillons très réduit a entraîné une forte variance)¹⁷⁴. L'hypothèse la plus probable pour expliquer l'augmentation de la densité de spores de *Bti* après la fin des traitements, dans le cas des roselières, serait leur consommation par les larves de chironomes détritivores benthiques, entraînant une multiplication de la bactérie¹⁷⁵.

Également dans la Camargue (voir section 5.1), la densité de spores de *Bti* à la surface des sédiments dans les sites non traités était en moyenne de 1 916 spores/g de sédiment et de 86 761 spores/g de sédiment dans les sites traités (Poulin, Lefebvre et Després, données non publiées)¹⁷⁶. Dans le site qui a reçu des traitements pendant la période de 2009 à 2011, il y avait en moyenne 500 083 spores/g de sédiment en 2012¹⁷⁵. En 2014, le nombre de spores avait décliné à 2 471 spores/g de sédiment¹⁷⁶. Selon les auteurs, la diminution de la densité des spores en 2014 est probablement due à l'assèchement du marais¹⁷⁶. Toutefois, la persistance des spores de *Bti* dans ce site a provoqué un délai de deux ans pour la

^p Sansouire : terme méditerranéen (lagunes, Camargue) pour désigner des écosystèmes herbeux, des prairies halophiles méditerranéennes composées de salicornes *Salicornia* sp., de la famille des Chénopodiacées (<https://www.aquaportail.com/definition-4397-sansouire.html>; consulté 1 avril 2020).

récupération des populations d'invertébrés (réduites de 50% par rapport aux sites non traités, ce qui a entraîné une diminution de 34 % de l'abondance de nourriture potentielle pour des passereaux¹⁷⁶).

De plus, certains facteurs pourraient avoir une influence sur la persistance du *Bti*. Par exemple, l'étude faite par Manasherob *et al.* (1998)¹⁷⁷, a montré que le protozoaire cilié *Tetrahymena pyriformis* (Hymenostomatida : Tetrahymenidae), couramment retrouvé dans les étangs d'eau douce, est capable d'ingérer des spores de *Bti* et de les encapsuler dans ses vacuoles alimentaires. Après l'excrétion de ces vacuoles par le protozoaire, les cellules du *Bti* sont encore capables de se multiplier et elles produisent des spores entre 27 et 42 h avec des endotoxines stables et actives¹⁷⁷. Selon les auteurs de cette étude, cette bioencapsulation représente une autre manière dont le *Bti* est recyclé, à travers des organismes non visés¹⁷⁷. De la même manière, étant donné que la germination de cette bactérie se produit dans les cadavres d'insectes, tels les moustiques et les chironomes¹⁷⁵, la consommation des spores de *Bti* par des moustiques et des chironomes détritivores benthiques peut soutenir le recyclage de cet insecticide dans l'environnement, ce qui a déjà été observé par Tilquin *et al.* (2008)¹⁶⁵ et par Poulin (2014)¹⁷⁵.

Quant aux études faites au Québec sur la persistance et la toxicité du *Bti*, des expériences conduites de mai à octobre par Dupont et Boisvert (1986)⁴³ dans le lac Boitel, en Mauricie, ont démontré que la toxicité de la formulation Teknar WDC reste stable pendant au moins 21 jours dans l'eau froide du lac. Le contact du Teknar® avec un substrat solide résulte en une réduction rapide de sa toxicité. La toxicité diminue dans le temps, atteignant un minimum entre 43 et 69 jours, suivis par une augmentation jusqu'à la fin des expériences (174 jours), sauf lorsqu'il y a contact avec des sédiments organiques⁴³ (contrairement à ce qui a été trouvé pour la Camargue, en France). Cette augmentation de toxicité est due à la production de nouveaux spores et cristaux par le *Bti*⁴³. De plus, l'eau des lacs contient assez de nutriments pour la croissance bactérienne et ainsi dans les climats tempérés, le *Bti* pourrait sporuler et générer de nouveaux cristaux et devenir toxique pour des organismes qui broutent les sédiments ou d'autres surfaces, ou qui filtrent l'eau pour se nourrir des particules en suspension⁴³. Boisvert (1988)¹⁷⁸ a fait des tests pendant cinq mois sur la persistance de l'activité toxique de *Bti* (Teknar HPD) dans le lac Troglodyte, situé dans la Réserve Saint-Maurice, localisée à environ 100 km au nord-ouest de Trois-Rivières. Des variations dans les décomptes de spores et cellules végétatives ainsi que la persistance et le recyclage de *Bti* y ont été observés¹⁷⁸. Boisvert et Boisvert (1999)¹⁷⁹ ont fait un suivi de mai à octobre (5 mois) sur la persistance de l'activité toxique ainsi que le recyclage de *Bti* (Teknar HP-D) dans des chambres de diffusion à 50 cm du fond dans le lac Peacan, aussi situé dans la Réserve Saint-Maurice. La toxicité persistait pendant toute la période et le recyclage était surtout observé dans des chambres avec sédiments et végétation¹⁷⁹. En plus

de l'augmentation du nombre de spores du *Bti*, ils ont aussi observé des cellules végétatives pendant 5 mois¹⁷⁹.

Par ailleurs, la persistance des spores et cellules végétatives de *Btk* dans le sol pendant au moins sept ans après l'application a été observée et ceci est un processus dynamique impliquant la germination, des divisions cellulaires et la sporulation dans des microhabitats spécifiques (Hendriksen et Hansen 2002¹⁸⁰). La dispersion horizontale de *Btk* était limitée pendant cette période¹⁸⁰.

4.2. CONCLUSIONS

Les recherches montrent des résultats contradictoires sur la persistance, le recyclage et l'activité du *Bti* dans la nature. Ces différences reflètent probablement la diversité des écosystèmes étudiés et leur interaction avec les épandages de cet insecticide.

Plusieurs études indiquent que cet insecticide peut proliférer dans la nature (se recycler), tant au niveau des cellules végétatives⁴⁵ qu'au niveau des spores^{45,177} et des toxines^{45,177}. De plus, les études faites par Dupont et Boisvert (1986)⁴³ et Boisvert (1988)¹⁷⁸, ont mis en évidence que ce phénomène se produit aussi au Québec, bien que la formulation de *Bti* qui a été étudiée, le Teknar®, n'est plus utilisée au Québec. Par ailleurs, cette formulation est encore fabriquée par la même entreprise et avec la même souche que le VectoBac^q. Ainsi, le *Bti* contenu dans le VectoBac®1200L et le VectoBac®200G pourrait aussi proliférer (se recycler) et avoir une persistance dans l'écosystème tel qu'observé en Camargue^{174,175,176}, car ces formulations ne sont pas stérilisées avant les épandages comme celles utilisées dans la vallée du Rhin en Allemagne⁴⁹. Dans le cas des épandages allemands, le fait de stériliser le *Bti* en l'exposant aux rayons γ , montre qu'il existe des préoccupations quant à l'introduction d'organismes vivants et à leur survie potentielle dans l'écosystème. Aussi, l'augmentation des superficies des zones infestées par le roseau commun ou la phragmite, au Québec, crée des roselières avec une quantité importante de matière organique dans le substrat, qui selon les études en Camargue, sont propices à l'accumulation de spores de *Bti*¹⁷⁴.

En conclusion, plusieurs études^{171,174-178} ont montré que le *Bti* et ses endotoxines ont le potentiel de persister et de se recycler dans l'écosystème. Certains mécanismes de recyclage ont été prouvés et il pourrait exister d'autres mécanismes permettant la prolifération de cette bactérie après les épandages. De plus, les interactions du *Bti* avec des facteurs environnementaux, comme la présence des contaminants

^q <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/teknar/>; consulté le 12 août 2019

ou de matière organique dans les milieux humides, ou avec d'autres organismes qui pourraient jouer un rôle important dans la persistance et le recyclage de cet insecticide, pourraient être explorées pour une meilleure compréhension de ce phénomène.

5. Études de cas sur la gestion des épandages de *Bti*

Parmi les publications sur les impacts de l'épandage de *Bti*, on peut identifier deux groupes de travail situés dans deux régions d'Europe : le parc naturel régional de Camargue en France et la vallée du Rhin en Allemagne. Malgré des situations environnementales, sociales et politiques différentes, ces études de cas présentent respectivement les résultats d'un suivi à long terme des effets des épandages de formulations de *Bti* sur l'écosystème et, dans l'autre cas, une multitude d'études court terme sur l'utilisation de *Bti* échelonnée sur près de 40 ans, mais aucun suivi à long terme des différentes composantes des écosystèmes traités¹²⁶. Les résultats présentés dans ces études de cas se trouvent aussi dans des sections qui traitent des différents groupes d'organismes ou fonctions des écosystèmes.

5.1. ÉTUDE DE CAS NO. 1 : PARC RÉGIONAL DE LA CAMARGUE EN FRANCE

Dans le parc naturel régional de Camargue, en France, la démoustication était interdite jusqu'en 2006 bien que réalisée ailleurs sur le littoral méditerranéen. À partir d'août 2006, des épandages aériens ainsi que terrestres (30 % des superficies traitées) à base de *Bti* ont été faits pendant un projet pilote de 5 ans s'échelonnant de 2006 à 2011 par l'organisation « EID Méditerranée » (Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen)^r. Ces épandages ont été accompagnés d'un suivi environnemental et sociologique fait par des chercheurs indépendants de l'organisme qui effectuait les épandages dans le parc de la Camargue^{176,181,182}. Ce projet pilote, incluant les suivis environnementaux et sociologiques, a été renouvelé pour une période de 5 ans, soit jusqu'en 2016. Chaque année, 30 à 50 traitements de VectoBac 12AS ont été effectués. Le taux d'application était de 2,5 l/ha¹⁷⁶, ce qui correspond à 319 750 ITU/m², ce qui dépasse légèrement le taux recommandé par le fabricant (35 077 à 280 618 ITU/m², voir annexe 1) de 39 132 ITU/m² ou 14 %. S'il y avait des marges de protection pour le *Bti*, ces dépassements devraient être sans impact sur les espèces non ciblées (voir section 1.3 Homologation). Les épandages ont été faits en fonction de la pluviométrie¹⁸³ et de la gestion du niveau de l'eau, notamment dans les rizières¹⁷⁵. Les résultats de l'évaluation environnementale de la première période, soit de 2006 à 2011, ont montré que les épandages de *Bti* ont eu des impacts importants, surtout

^r <http://www.eid-med.org/> ; consulté 1 avril 2020.

sur les insectes non ciblés, les insectes insectivores et les oiseaux insectivores. De plus, la persistance et le recyclage du *Bti* après l'épandage ont été constatés. Les autorités ont décidé de poursuivre néanmoins les épandages de *Bti* et son suivi, mais sur une base annuelle de 2012 à 2015, puis d'axer le suivi sur le développement de solutions alternatives à partir de 2016 afin que soit mise en œuvre une démoustication principalement à base de pièges à partir de 2021 suite à deux années tests (2019-2020) par l'organisme responsable de la démoustication (Brigitte Poulin, comm. pers. 5 mars 2019). Or ces expériences avec les pièges n'ont finalement pas eu lieu (Brigitte Poulin, comm. pers. 5 octobre 2020). Les travaux effectués lors de la période de 2011 à 2016 ont confirmé ces impacts¹⁸⁴. Cette évaluation environnementale a fourni des informations sur l'effet des épandages répétitifs de *Bti* à long terme dans l'écosystème. Dans ce contexte, le dépassement des dosages induit toutefois un biais sur le niveau d'impact recensé dans les résultats des travaux faits dans la Camargue.

5.2. ÉTUDE DE CAS NO.2 : VALLÉE DU RHIN EN ALLEMAGNE

KABS^s, une organisation sans but lucratif qui existe depuis 1976^{185,186}, a pour mission « le contrôle des insectes piqueurs en respectant l'environnement, avec des solutions écologiquement acceptables »¹⁸⁶. L'étendue des zones traitées par KABS s'est agrandie graduellement (figure 3) et couvre maintenant les plaines inondables du Rhin et ces milieux humides sur une longueur de plus que 350 km^{187,188}. Suite à la découverte du *Bti* par Yoel Margalit en 1976²⁰, plusieurs études en lien avec l'Université de Heidelberg, Allemagne, ont été effectuées. Ces études, réalisées en laboratoire et sur le terrain, ont commencé en 1978 et portaient sur les effets à grande échelle de la démoustication à l'aide de *Bti*. Non seulement l'efficacité de cet insecticide était évaluée, mais aussi l'impact de la formulation utilisée sur des organismes non ciblés, sur l'environnement, sur le fonctionnement de l'écosystème et sur le réseau trophique. La plupart de ces études n'ont pas trouvé d'effets négatifs du *Bti*. Des employés du KABS ont participé activement à ces projets de recherche. Norbert Becker est actuellement directeur scientifique du KABS et y travaille depuis 40 ans. Il est aussi le directeur général et l'ancien président de l'« *European Mosquito Control Association* » (EMCA)¹⁸⁹ et président de l'« *World Mosquito Control Association* » (WMCA)^t. Il est l'auteur ou coauteur de la plupart des publications sur les impacts de l'épandage de *Bti* sur l'écosystème et sur le fonctionnement des réseaux trophiques dans la vallée du Rhin. De plus, il a

^s Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage (KABS: *German Mosquito Control Association*; <https://www.kabsev.de> consulté 20 novembre 2020)

^t <http://www.wmvca.org/> consulté 20 novembre 2020.

participé, à différents niveaux, aux études d'autres auteurs, p.ex. Maletz *et al.* (2015)¹³³ et Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰. Ainsi, les études et suivis environnementaux n'ont pas été faits par des chercheurs indépendants¹⁹¹ et certains travaux, ont reçu du support et du financement de la part du fabricant Valent Biosciences¹⁹².

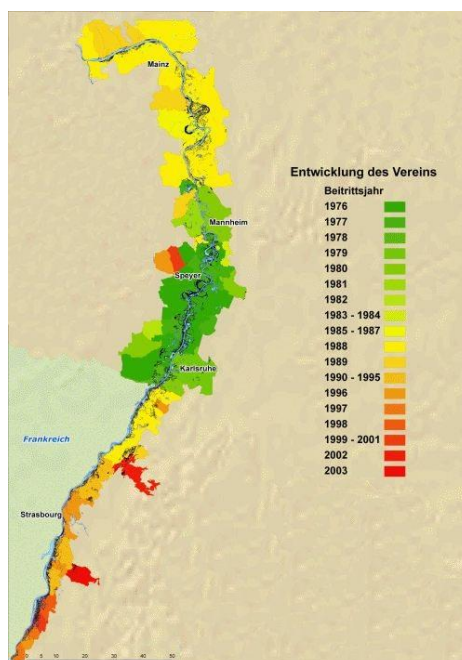


Figure 3. Évolution de la superficie des zones avec le contrôle de moustiques par KABS dans la vallée du Rhin en Allemagne de 1976 à 2003¹⁹³ pour couvrir une zone contiguë sur une longueur de plus que 350 km englobant différents milieux protégés pour la biodiversité et un site Ramsar¹²⁶.

La compagnie KABS utilise deux formulations de *Bti* pour ses épandages : le VectoBac 12 AS et le VectoBac WG. Il y a jusqu'à 12 applications par saison avec un dosage dans la nature de 1 440 ITU/l qui peut être doublé à 2 880 ITU/l, selon les stades larvaires des espèces de moustiques présentes^{48,194,195,196}. Ces deux formulations de *Bti* sont épandues manuellement. Dans le cas des épandages aériens, 40 kg de VectoBac WG sont mélangés dans 1 000 L d'eau. Ce mélange est transformé en gouttelettes de glace (*Eisgranulat* ou *IcyPearls*) et épandues par hélicoptère à raison de 10 à 15 kg/ha (20 kg/ha pour des larves de stade 4). L'utilisation de *Eisgranulat* assure un meilleur dépôt du *Bti* dans l'eau des milieux humides marécageux que les produits commerciaux^{194,49}. Lors des inondations majeures en 2016, KABS a traité une superficie record de 30 100 ha. Ils ont épandu 305 000 kg de *Bti* sous forme d'*Eisgranulat*¹⁹⁷.

KABS prend des mesures d'atténuation pour réduire les effets non désirés des épandages à base de *Bti* dans l'écosystème, notamment pour l'épandage fait dans des aires protégées vouées à la conservation de la biodiversité (Natura 2000 et autres)^{191,198}. Premièrement, afin d'éviter le potentiel de recyclage et l'accumulation des spores viables de *Bti* dans la nature, les formulations sont stérilisées par irradiation gamma avant l'épandage^{48,49}. Également, avant de réaliser l'épandage, un inventaire des larves de moustiques dans des habitats potentiels est effectué pour déterminer le nombre de larves, leurs stades et les espèces présentes¹⁹⁹. Ainsi, les épandages sont faits selon un seuil de densité et les stades de larves de moustiques. De la même manière, KABS ne fait pas d'épandage dans des zones importantes pour la reproduction des chironomes^{200,201} afin de réduire l'impact du *Bti* sur ces organismes non ciblés. Ces zones sont déterminées d'après les inventaires de densités de larves avant épandage, et ce, depuis plusieurs années. Enfin, KABS fait les épandages en mosaïques dans les zones inondables favorables aux moustiques. En effet, des « trous » sans épandage sont établis afin de préserver la biodiversité et le fonctionnement du réseau trophique et il y a des zones où il n'y a jamais d'épandage, c'est-à-dire des « zones taboues »²⁰⁰.

Pendant la période 2015-2019, Carsten Brühl de l'Université Koblenz-Landau - Campus Landau (dans la vallée du Rhin) a eu un financement par la 'Deutsche Bundesstiftung Umwelt' (DBU; Fondation allemande pour l'environnement) pour un projet de recherche afin d'étudier les impacts de l'épandage de *Bti* sur des espèces non ciblées et le fonctionnement de l'écosystème. L'objectif consistait à proposer un concept pour contrôler les insectes piqueurs conforme aux normes pour la conservation de l'intégrité de l'écosystème dans les aires protégées^{104,105,180}. Les résultats issus de ce projet conduit dans la vallée du Rhin sont présentés dans les différentes sections.

5.3. COMPARAISON DES SUIVIS D'ÉPANDAGES À BASE DE BTI ENTRE LA CAMARGUE ET LA VALLÉE DU RHIN

Le tableau II montre une synthèse de la comparaison entre ces études. Peu d'effets des épandages sur les organismes non ciblés ont été repérés dans la vallée du Rhin, en contraste avec les résultats issus de l'évaluation environnementale faite en Camargue. Globalement, les suivis d'épandages à base de *Bti* des deux études de cas explorées dans le présent document ont montré des résultats différents quant aux effets non désirés de cet insecticide sur l'écosystème. Toutefois, il faut considérer les différences environnementales ainsi que les techniques d'épandage utilisées dans chaque cas. Notamment, le parc de la Camargue a fait l'objet d'épandage pendant 10 ans, mais aucune méthode de démoustication n'avait

été utilisée auparavant. Alors, les effets observés durant cette période reflètent les conséquences des épandages sur un écosystème qui n'avait pas été impacté auparavant par la lutte contre les moustiques. Dans la vallée du Rhin, la démoustication avait commencé en 1910 avec diverses méthodes de contrôle¹⁸⁵. Ainsi l'écosystème était déjà sous l'influence de divers procédés de traitement, probablement plus invasifs, avant le début de l'utilisation du *Bti* à partir de 1978¹⁸⁵, car la vallée est très anthropisée. Ainsi, il est possible que l'écosystème et les espèces présentes se soient adaptés à cette perturbation et aient trouvé un nouvel équilibre. Un autre fait important est la façon dont les épandages ont été faits dans chaque région. Dans le parc de la Camargue, de 30 à 50 traitements aériens et terrestres avec *Bti* ont été réalisés chaque année avec VectoBac 12AS à un dosage de 319 750 ITU/m² et peu de mesures d'atténuation des risques ont été adoptées. Dans le cas de la vallée du Rhin, plusieurs mesures d'atténuation ont été prises, telles que l'utilisation de seuils de diptères ciblés comme outil de décision pour gérer les épandages. La stérilisation des formulations empêche le cycle de vie normal du *Bti*, c.-à-d. la germination des spores suivie par la croissance, le recyclage, la sporulation quand les conditions sont défavorables, et la production de nouvelles toxines. De plus, les épandages sont évités dans les zones de reproduction de chironomes et les épandages sont faits en mosaïque dans les zones cibles. Aussi, les études sur les effets des épandages ont été faites par des chercheurs indépendants, dans le cas de la Camargue^{181,182} et par des chercheurs en lien avec l'entité qui fait les épandages dans le cas de la vallée du Rhin¹⁹¹. Toutes ces variables font en sorte que la comparaison des résultats des études faites dans la Camargue avec ceux des études réalisées dans la vallée du Rhin est complexe. Les mesures d'atténuation du risque attribué aux épandages de *Bti* dans la vallée du Rhin semblent, à première vue, réduire les effets de cet insecticide dans l'environnement. Or, dans la vallée du Rhin, il n'y a pas de suivi long terme des différentes composantes des écosystèmes traités¹²⁶ comme dans la Camargue, où il y a des observations écologiques en continu sur une période de 11 ans. D'autres variables de l'écosystème peuvent aussi expliquer ces différences. Dans les prochaines sections, les résultats des études de la Camargue et de la vallée du Rhin, ainsi que plusieurs autres études seront analysés en détail pour chacun des groupes d'animaux non ciblés par le *Bti*.

Tableau II. Comparaison des contextes de deux études de cas, a) Projet pilote d'épandage de *Bti* dans le parc régional de la Camargue en France et évaluation environnementale indépendante ; b) Études effectuées dans la vallée du Rhin en Allemagne, par l'équipe du KABS, sur l'impact de l'épandage de *Bti* sur la faune non ciblée. (N/A : L'effet du *Bti*, ou de leurs formulations n'a pas été évalué sur ce groupe d'organismes.)

Variable	Camargue	Vallée du Rhin
Nature des initiatives de recherche	Chercheurs indépendants	Chercheurs associés aux épandages
Écosystème	Parc National sans programme préalable de lutte contre les insectes piqueurs	Programme de lutte contre les insectes piqueurs depuis 1910, divers techniques et insecticides ont été utilisés avant le <i>Bti</i>
Historique des épandages de <i>Bti</i>	Depuis 2006	Depuis 1976 ¹⁸⁵
Superficies d'épandages	Jusqu'à 8 400 (25%) des 33 064 ha des gîtes larvaires potentiels ¹⁷⁶	Jusqu'à 30 100 ha ¹⁹⁷
Formulations de <i>Bti</i> et taux d'application utilisé	VectoBac 12 AS: 319 750 ITU/m ² (dépasse légèrement le taux maximal, voir texte)	VectoBac WG: 120 000 à 144 000 ITU/m ² VectoBac 12 AS : 192 000 ITU/m ² Ces taux peuvent être doubles (voir texte)
Taux d'application recommandé	35 077 à 280 618 ITU/m ²	VectoBac WG: 36 778 à 300 000 ITU/m ² VectoBac 12 AS : 35 077 à 280 618 ITU/m ²
Fréquence des épandages	30 à 50 applications par année	Jusqu'à 12 applications par année
Dépassement du taux d'application recommandé	39 132 ITU/m ²	0 ITU/m ²
Recyclage du <i>Bti</i>	Oui	Non : stérilisation des formulations de <i>Bti</i> par irradiation gamma avant l'épandage
Accumulation du <i>Bti</i>	Oui	Non mesuré car formulations stérilisées
Épandages selon les seuils de densité de larves de diptères nuisibles	Oui, la pluviométrie ¹⁸³ , gestion du niveau d'eau ainsi que la surveillance des milieux	Oui
Épandages dans des zones importantes pour des espèces non ciblées à proscrire	Oui, jamais d'épandages dans les zones avec le statut 'réserve naturelle' (niveau de protection plus élevé que parc naturel) qui représentent plus de 10% de son territoire. De plus, il y a des zones sans habitations.	Oui : zones de reproduction de chironomidés et utilisation de mosaïques dans des zones de moustiques pour la préservation de la biodiversité et le fonctionnement du réseau trophique.
Effets constatés sur les organismes non ciblés après les épandages		
Groupe d'organismes	Camargue	Vallée du Rhin
Chironomes	Populations réduites	Pas d'effet observé
Autres insectes	Populations réduites de coléoptères, thysanoptères, araignées et odonates.	Pas d'effet observé
Oiseaux insectivores	Réduction de la taille de la nichée et du taux de survie des oisillons de l'Hirondelle de fenêtre suite à la réduction de leurs proies. Ceci a résulté en une baisse de 22 % des effectifs d'hirondelles. De plus, il y a eu une diminution de plusieurs autres espèces : foulque macroule, canard colvert, canard chipeau, grèbe huppé, huîtrier pie.	Pas d'effet observé
Amphibiens	N/A	Pas d'effet observé
Chiroptères	Activité de chasse perturbée et taux de capture des proies réduite	Pas d'effet observé
Poissons	N/A	N/A
Autres organismes aquatiques	N/A	N/A
Autres variables de l'écosystème	N/A	N/A
Recyclage du <i>Bti</i>	Le recyclage de spores de <i>Bti</i> dans le temps a été démontré.	Pas de recyclage observé, car les formulations sont stérilisées.

6. Effets sur les insectes et sur d'autres arthropodes

Il y a des relations importantes, voire même une interdépendance, entre les réseaux trophiques aquatiques, terrestres et aériens des écosystèmes²⁰²⁻²¹⁶. L'émergence des insectes aquatiques au printemps constitue la principale source de nourriture pour les réseaux trophiques terrestres et aériens quand les proies d'origine terrestres sont rares²⁰² et cette émergence y contribue considérablement le reste de l'année^{215,216,206}, influençant entre autres la distribution des arthropodes terrestres²⁰⁸, des toiles d'araignées²⁰⁹, des zones d'alimentation des oiseaux insectivores²⁰³ et des chauves-souris²¹⁰. La réduction des insectes émergents induite par une intervention humaine, telle que l'épandage de *Bti*, pourrait affecter de manière indirecte les populations d'insectivores terrestres et aériens ainsi que les réseaux trophiques au printemps²⁰⁷.

6.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs

La littérature montre que les effets directs du *Bti* sur les insectes et sur d'autres arthropodes non ciblés associés aux milieux aquatiques varient, ce qui pourrait être en lien avec les différences de sensibilités des organismes au *Bti*, le comportement de cet insecticide dans les divers écosystèmes étudiés ou encore, avec les différences dans les méthodes d'évaluation utilisées. Les insectes les plus étudiés sont les diptères, parmi lesquels les chironomes qui sont les arthropodes non ciblés qui ont reçu le plus d'attention, car ils sont plus sensibles au *Bti*.

Les larves de moustiques du premier stade sont très sensibles aux manipulations, résultant en une mortalité importante lors des essais (Mulla 1990 dans de Barjac et Sutherland 1990²⁵). Ainsi, ce stade a généralement été exclu des expériences sur la sensibilité des espèces (ciblées et non ciblées) au *Bti*. En vieillissant, la sensibilité des larves de moustiques au *Bti* (et à la manipulation) diminue²¹⁷ de manière significative (1,5 à 15 fois du 2^e stade au 4^e stade)²⁵. Pour les tests d'efficacité et de sensibilité (*de Barjac Protocol*), il est recommandé d'utiliser des larves au début du 4^e stade²⁵. Cette diminution de sensibilité des larves en vieillissant est aussi observée chez des chironomes (voir plus bas dans cette section). De plus, il y a des différences de sensibilité pour les larves de différentes espèces et genres de chironomes et de moustiques, p. ex. la LC₉₀ pour *Anopheles quadrimaculatus* est jusqu'à 15 fois celle obtenue pour *Cx. quinquefasciatus* ou *Aedes aegypti*²⁵.

Metzger (1987)²¹⁸ a montré dans une étude de laboratoire en Allemagne que des larves des 2^e, 3^e et 4^e stades de *Chironomus plumosus* (Diptera : Chironomidae) sont affectées par le *Bti* à des doses de plus de 2 mg/l de Bactimos WP (12 000 ITU/l). Toutefois, cette concentration est 80 fois plus élevée que le dosage utilisé lors de l'épandage de routine du *Bti* (150 ITU/l). Par contre, lors des expériences de terrain des concentrations jusqu'à 4 mg/l (24 000 ITU/l), ne semblaient pas impacter les larves du groupe *C. plumosus*²¹⁸.

Pendant une période de 7 ans, des applications manuelles de VectoBac WG (300 g/ha, $0,9 \cdot 10^9$ ITU/ha, de 2006 à juin 2011 et 220 g/ha, $0,66 \cdot 10^9$ ITU/ha, de juillet 2011 à octobre 2012) ont été effectuées dans un milieu humide salé soumis aux cycles de marées (site Ramsar) sur la côte de Bretagne, en France (Lagadic *et al.* 2014²¹⁹). Les applications manuelles (total 47 applications, i.e. en moyenne de 7 par an) ont été effectuées quand le nombre de larves de moustiques dépassait 5 par litre²¹⁹. Les épandages de *Bti* n'affectaient pas l'évolution temporelle de la structure taxinomique ni l'abondance des organismes non ciblés (tant aquatiques que benthiques)²¹⁹. Lagadic *et al.* (2016²²⁰; plusieurs coauteurs sont employés des organisations qui effectuent la démoustication) n'ont pas observé d'impacts des épandages sur une période de quatre ans de VectoBac WDG ou VectoBac 12AS ($0,66 - 3,2 \cdot 10^9$ ITU ha⁻¹ i.e. n'excédant pas les dosages recommandés) dans différents milieux humides côtiers (salés) en France sur des espèces aquatiques non ciblées, incluant des chironomidés.

En Camargue, en France, une étude faite dans des mésocosmes sur le terrain n'a démontré aucun impact du VectoBac 12AS, au taux d'application dans la gamme recommandée par le fabricant (annexe 1), sur l'émergence de deux espèces de chironomidés (*Polypedilum nubifer* et *Tanytarsus curticornis*) après 21 jours²²¹. Pont *et al.* (1999)²²² ont observé, aussi en Camargue, une réduction de l'abondance des larves de chironomidés dans des mésocosmes après le traitement avec du VectoBac (1200 ITU/mg, mais pas de détails sur la formulation) à un dosage de 1,6 mg/l (équivalent de 2 l/ha selon ²²²), mais il n'y avait pas de réduction significative d'émergence des chironomes à cette concentration²²². Par contre, il y avait un délai de 2 jours pour l'émergence dans les zones traitées²²². Parmi les différentes espèces, ils ont observé que *Tanytarsus fimbriatus* était le plus sensible au *Bti* suivi par *T. horni* et *Microchironomus deribae* et que *P. nubifer* n'était pas affecté²²². Cette différence de sensibilité résulte en un changement dans la composition et la dynamique de la communauté des chironomes²²².

Un suivi de six ans dans des milieux humides en Suède a montré que cinq applications en 6 ans du VectoBac G (13–15 kg/ha c.-à-d. 0,4 kg/*Bti* ha, i.e. avec des taux recommandés pour les larves âgées et l'eau polluée), n'a pas d'impact sur l'abondance de 25 espèces de chironomidés deux semaines après les

traitements²²³. À long terme, la taille des populations de quatre espèces (*T. medius*, *Pseudosmittia angusta*, *Ablabesmyia longistyla*, *Paramerina cingulata*) a augmenté, tandis que l'abondance d'une espèce (*Telmatopelopia nemorum*) a été réduite²²³. Dans une seconde publication avec les mêmes données, les auteurs concluent que le *Bti* n'a pas d'effets négatifs sur la diversité des espèces de chironomes²²⁴. Dans une troisième publication²²⁵, la même équipe de recherche montre que sur six ans, le VectoBac G au taux d'application dans la gamme recommandée, n'a aucun effet sur l'abondance des différentes espèces d'insectes émergents non ciblés dans ces mêmes milieux humides. Les diptères, principalement des nématocères, étaient les insectes les plus abondants dans les zones traitées²²⁵. De plus, l'abondance des cératopogonidés (brûlots) était plus élevée dans les milieux humides traités au *Bti* que ceux sans épandage²²⁵. La principale conclusion de l'étude a été que l'impact du *Bti* sur la production d'insectes semble être faible en comparaison à d'autres facteurs environnementaux qui déterminent les communautés d'insectes dans des milieux humides temporaires des plaines inondables²²⁵.

Parmi les recherches qui ont détecté des effets significatifs du *Bti* sur les organismes non ciblés, l'étude de laboratoire de Rey *et al.* (1998)²²⁶ a montré qu'après 72 h d'exposition au Bactimos WP (taux d'application opérationnel 0,4 mg/l ou 2000 ITU/l), la simule *Simulium variegatum* (Diptera : Simuliidae) et le chironome *Chironomus annularius* (Diptera : Chironomidae), toutes les deux des espèces non visées, atteignaient 100 % et 76 % de mortalité, respectivement. Des taux de mortalité similaires ont été observés pour *Aedes rusticus* (Diptera : Culicidae), l'espèce ciblée, qui réagit plus vite à la toxicité du *Bti* (88 % de mortalité en 24 h et 100 % de mortalité en 48 h)²²⁶.

L'étude récente par Theissinger *et al.* (2018)²²⁷, réalisée dans la vallée du Rhin en Allemagne, a démontré que l'émergence des chironomes était réduite de 65 % dans des sites traités avec VectoBac WG (taux d'application opérationnel sous forme d'Eisgranulat : 1.44×10^9 ITU/ha). Dans des sites non traités avec du *Bti* pour la première fois depuis 20 ans, l'émergence était aussi moindre²²⁷. Les auteurs assument que la communauté de chironomes était affectée par plusieurs années d'épandage de *Bti* et que la dissémination des chironomes adultes à partir des sites non traités n'était pas assez importante pour restaurer les populations²²⁷. Fillinger (1998)²²⁸ a observé dans des milieux humides de la même région en Allemagne, une réduction de 94 % d'émergence des chironomes dans des sites traités au *Bti* (cité dans¹⁹⁶).

Des travaux réalisés par la même équipe (dans la même région en Allemagne) dans des mésocosmes artificiels de milieux humides ont montré que l'émergence des deux sous-familles de chironomidés, dominants dans le système, Chironominae et Orthocladiinae était réduite de 44 % et de 58 %, respectivement, par le *Bti* (VectoBac WG concentration dans l'eau de 1 740 ITU/l, ceci correspond à un

dosage normal pour des eaux polluées ou usées), mais le taux d'émergence de la sous-famille Tanypodinae n'était pas affecté (Allgeier *et al.* 2019)¹⁹⁶. Ces derniers sont des prédateurs qui n'ont pas tendance à consommer des spores comme le font les chironomidés filtreurs¹⁹⁶. Morawcsik (1983)²¹⁷ avait aussi observé que les Tanypodinae étaient moins sensibles que d'autres chironomes. Or, dans une étude subséquente utilisant des techniques génétiques (metabarcoding) pour décrire les populations de chironomidés émergentes dans les milieux humides dans la vallée du Rhin, Theissinger *et al.* (2019)²²⁹ observent que les populations de chironomidés prédateurs sont affectées autant que les espèces filtreurs. Ceci montre que la stratégie alimentaire ne détermine pas l'impact sur ces groupes de chironomes²²⁹. Les larves du stade 1 des Tanypodinae sont planctoniques et peuvent ingérer des spores de *Bti* et ainsi être exposés à ses toxines²²⁹. Les larves des stades subséquents des Tanypodinae peuvent être exposées de manière indirecte au *Bti* par la prédation sur des larves de stade 1, ainsi que des chironomidés filtreurs contaminés par le *Bti* ou par le *Bti* recyclé²²⁹. Ce mécanisme a déjà été démontré pour des larves de plécoptères (Plecoptera; mouches de pierre) se nourrissant de larves de la spodoptère littorale (*Spodoptera littoralis*; Lepidoptera) contaminées par des toxines de *Bt*²³⁰. Les abondances d'autres invertébrés non ciblés, tel que le zooplancton (Cladocera, Copepoda et Ostracoda), les escargots (Planorbidae, Physidae) et les aselles (*Asellus aquaticus*, Malacostraca) n'étaient pas affectés par l'application de *Bti* dans les mésocosmes¹⁹⁶. Dans des zones semi-naturelles de la plaine inondable, l'émergence des chironomes était réduite de 24 % (non significatif) par le *Bti* (Eisgranulat à partir de VectoBac® WG taux d'application $1.44 \cdot 10^9$ ITU/ha, c.-à-d. taux normal)¹⁹⁶. Dans des milieux forestiers humides (application manuelle VectoBac WG 0,5 kg/ha, $1.2 \cdot 10^9$ ITU/ha) et dans des milieux humides situés dans des champs (Eisgranulat, VectoBac WG, $1.44 \cdot 10^9$ ITU/ha) l'épandage de *Bti* réduit de 50 % le taux d'émergence de chironomes et de plus de 90 % celui des moustiques¹⁹⁶. Selon les auteurs, la réduction des populations de chironomidés, en plus de la réduction des moustiques, peut causer un effet négatif indirect sur les oiseaux, les chiroptères et d'autres organismes qui se nourrissent de ces insectes¹⁹⁶. Cette réduction d'insectes émergents est particulièrement inquiétante dans les sites destinés à la protection et conservation de la nature¹⁹⁶. Après l'éclosion, le premier stade larvaire des chironomidés nage souvent pendant quelque temps dans la colonne d'eau avant de se retrouver sur les sédiments²³¹. Il est ainsi exposé au *Bti* au même niveau que les larves de moustiques. De plus, la réduction des populations de larves de chironomidés et de simules, en plus de la réduction des moustiques, peut affecter la densité de proies disponibles pour des espèces aquatiques insectivores benthiques¹⁹⁶. Theissinger *et al.* (2019)²²⁹ ont observé que l'impact de *Bti* sur l'émergence des chironomidés peut varier parmi les sites et les modes d'application (mêmes dosages de *Bti*-VectoBac que présenté par Allgeier *et al.* 2019)¹⁹⁶. Ils ont aussi noté

que la recolonisation par des chironomidés après l'arrêt des épandages effectués pendant 20 ans par des espèces observées dans des sites sans épandages peut prendre plusieurs années²²⁹. De plus, l'application de *Bti* peut modifier l'abondance relative dans les populations de chironomidés émergents, voire complètement changer la composition de la communauté des chironomes²²⁹. Par contre, l'abondance et la composition de la communauté de larves des chironomidés de la plaine inondable n'étaient pas affectées par des épandages de *Bti* pendant trois ans en Autriche (Wolfram *et al.* 2018²³²). L'épandage de *Bti* y est effectué manuellement par voie terrestre (VectoBac AS : 0,5 à 1 l/ha ou 0,64 à 1,28*10⁹ ITU/ha ou VectoBac WDG <400 g/ha ou 1,2*10⁹ ITU/ha) et voie aérienne (VectoBac G : 10 à 12 kg/ha ou 2,0 à 2,4*10⁹ ITU/ha) quand la densité des larves de moustiques dépasse 20 par l, et ceci depuis 10 à 15 ans²³². Il y a une différence importante entre les études par Theissinger *et al.* (2019)²²⁹ et Wolfram *et al.* (2018)²³² : les premiers ont étudié les insectes émergents pendant 13 semaines²²⁹, alors que les seconds ont seulement échantillonné les sédiments pour les chironomidés une journée avant l'épandage de *Bti* (1x) et trois ou quatre jours après l'épandage (aussi seulement 1x)²³².

Lors des expériences de contrôle des larves des sylvicoles des fenêtres (*Sylvicola fenestralis*; Diptera : Anisopodidae), qui peuvent devenir une nuisance pour les humains vivants à proximité d'une station d'épuration, avec deux formulations de *Bti* (Teknar), en 1987 et 1988 en Angleterre, il n'y avait pas d'impact sur des espèces non ciblées, sauf pour les larves du chironome *Metriocnemus hygroptetrius*, qui affichaient 78 % et 80 % de mortalité (Coombs *et al.* 1991⁵⁴). Les conditions d'application et d'utilisation de *Bti* lors de ces expériences ne se comparent pas avec celles liées au contrôle des insectes piqueurs⁵⁴. Il est toutefois à noter que les auteurs mentionnent des impacts sur ce chironome et ils recommandent d'éviter des concentrations élevées de *Bti* dans l'effluent de la station d'épuration afin de ne pas affecter les populations de simules dans la rivière⁵⁴.

Les travaux publiés par Dickman (2000)²³³ sont intéressants, mais plusieurs détails nécessaires pour effectuer des comparaisons et pour tirer des conclusions sont absents. Des essais de toxicité aiguë avec le VectoBac (la formulation exacte n'est pas spécifiée dans l'article) ont été effectués sur des macroinvertébrés non ciblés récoltés dans un cours d'eau subtropical à Hong Kong²³³. Parmi les organismes testés, on retrouvait des larves de diptères, des éphémères, des hémiptères et aussi, une espèce de crustacé décapode. Aucun taux de mortalité significatif n'a été détecté sur ces organismes après 96 h, sauf pour les larves de chironomes (majoritairement stades 2 et 3, mais les espèces ne sont pas identifiées), dont entre 40 et 80 % étaient morts après seulement 4 h et 100 % après 96 h, et ce, à toutes les concentrations testées²³³ (ca. 60, 300 et 600 ITU/l; les concentrations ne sont pas présentées,

seulement une estimation de la quantité de *Bti* ajoutée). De plus, des essais terrain sur une période de 2 ans ont montré une réduction de l'abondance des chironomes suite à des épandages de VectoBac (1 g/m², taux d'application opérationnel) la première année, mais pas la deuxième année. L'auteur a conclu que les chironomes éliminés par le *Bti* la première année avaient probablement été remplacés par des espèces moins sensibles au *Bti* la deuxième année²³³. Or les espèces n'ont pas été identifiées.

Stevens *et al.* (2013)²³⁴ ont testé l'effet de différents dosages de VectoBac WDG sur des larves de *Chironomus tepperi*, un ravageur majeur dans les cultures de riz en Australie, et sur des espèces de chironomes non ciblés de la sous-famille Tanypodinae. La dose minimale recommandée pour le contrôle de moustiques dans les eaux polluées, soit 0,5 kg/ha (150 000 ITU/m²), a causé 39 % de mortalité de larves de *C. tepperi*. En augmentant le dosage à 1,25 et 2 kg/ha (375 000 et 600 000 ITU/m² respectivement), valeurs qui dépassent le taux recommandé pour le contrôle de moustiques, la réduction des larves de ce ravageur montait à 61 % et 81 % respectivement. Toutefois, les Tanypodinae n'ont pas été affectés²³⁴, comme observé aussi par Allgeier *et al.* (2019)¹⁹⁶. Dans une autre étude, Ali *et al.* (2008)²³⁵ ont montré que les CL₅₀^u pour *Glyptotendipes paripes* et *Goeldichironomus carus*, deux chironomidés présents en grandes densités et ciblés par le *Bti*, est de 1 307 et 665 ITU/l respectivement, soit des taux d'application dans la gamme de concentrations recommandées de VectoBac WDG pour le contrôle de moustiques (voir annexe 1). En conséquence, ces recherches indiquent qu'à l'intérieur de la famille des Chironomidae, il existe de la variabilité quant à la susceptibilité des espèces au *Bti*.

Concernant la susceptibilité des stades larvaires des chironomidés au *Bti*, plus les individus sont jeunes, plus ils sont susceptibles d'être affectés par ce larvicide. Cette relation s'observe d'un stade larvaire à l'autre, par exemple Ali *et al.* (1981)²³⁶ ont observé que les larves de stade 1 de *G. paripes* étaient 10 à 14 fois plus sensibles au *Bti* (formulations de l'époque) que les larves du stade 3. Et cette relation est également observée au sein d'un même stade larvaire. En effet, les jeunes larves de 4^e stade larvaire de *C. tepperi* sont plus sensibles au *Bti* que les larves plus âgées du même stade¹³⁸. Une série d'essais de toxicité de VectoBac WDG sur *C. riparius* a été faite pendant 28 jours par une équipe allemande indépendamment du KABS (Kästel *et al.* 2017¹⁹⁵). Cette période correspond à toute la période du cycle de vie aquatique de ce chironome¹⁹⁵. Cette étude¹⁹⁵ est la première à utiliser l'essai d'immobilisation immédiate *Chironomus sp.* de l'OCDE²³⁷ pour le *Bti*. Ces lignes directrices de l'OCDE stipulent l'utilisation des larves des quatre stades pour les essais de toxicité aiguë de produits chimiques²³⁷. Kästel *et al.* (2017)¹⁹⁵ démontrent que les larves de 1^{er} stade sont de deux ordres de grandeur plus sensibles que celles

^u CL₅₀: Concentration létale du produit chimique qui causant la mort de 50 % des individus (LC₅₀).

de 4^e stade¹⁹⁵. La CE_{50}^v des larves de 1^{er} stade était de 6,9 ITU/l, tandis que la CE_{50} des larves de 4^e stade était de 607,8 ITU/l. Il faut considérer aussi que la valeur CE_{50} pour des larves de 1^{er} stade était 209 fois plus faible que la plus faible concentration utilisée pour le contrôle des moustiques en Allemagne dans la vallée de Rhin¹⁹⁵. Les auteurs¹⁹⁵ affirment que les valeurs CE_{50} publiées dans la littérature scientifique ont été obtenues avec des larves de 3^e et 4^e stade (en laboratoire), qui seraient moins sensibles au *Bti* et que pour cette raison, il est probable que les risques de mortalité pour les chironomides lors des épandages dans la nature soient sous-évalués¹⁹⁵. Par ailleurs, le premier stade larvaire de *C. riparius* est utilisé depuis des décennies pour des essais standardisés pour tester la toxicité des sédiments²³⁸. Ainsi les larves de chironomes de *C. riparius* ne semblent pas très sensibles à la manipulation, comme mentionné pour le *de Barjac protocole* pour évaluer la sensibilité des larves de moustiques au *Bti*²⁵ (voir en haut). Cette forte sensibilité des larves de certaines espèces de chironomes au *Bti* suggère que les risques de perturbation des communautés et de l'abondance des insectes émergents seraient aussi sous-évalués ainsi que les perturbations potentielles des réseaux trophiques, surtout au printemps quand les chironomes constituent une source de nourriture importante pour la reproduction des vertébrés¹⁹⁵. Plusieurs études récentes, telles que Kautza et Sullivan (2016)²¹⁵, montrent que les chironomes sont souvent les insectes émergents les plus abondants dans une rivière en Ohio, USA, et Martin-Creuzberg *et al.* (2017)²⁰⁶ dans un lac en Europe. De plus, Theissinger *et al.* (2018)²²⁷, Allgeier *et al.* (2019)¹⁹⁶ et d'autres références dans ces deux publications, montrent que les chironomes sont souvent les insectes émergents les plus abondants dans les milieux humides temporaires.

Les résultats obtenus par Kästel *et al.* (2017)¹⁹⁵ sont confirmés par Bordalo *et al.* (2020)²³⁹, qui ont observé lors des tests de toxicité aiguë en laboratoire que le 1^{er} stade de la même espèce, *C. riparius*, avec VectoBac AS (concentrations de 0,0075 à 7500 ng/l), une concentration létale causant la mort de 50 % des individus (CL_{50}) après 48 h de 1,85 (1,05–2,71) µg/l. Des expériences de survie et de croissance pendant 28 jours (concentrations non létales de 5 à 80 ng/l) montrent que la croissance diminue quand les concentrations augmentent avec une réduction significative de 12,7 % à 80 ng/l²³⁹. Le nombre d'individus qui émergent diminue de manière significative quand la concentration augmente avec une émergence de seulement 40 % à 80 ng/l, affectant les mâles et femelles de la même manière²³⁹. Par contre, la formulation n'affectait pas le poids des imagos mâles et des femelles²³⁹. Afin d'évaluer l'impact physiologique (stress oxydatifs et neurophysiologiques) sur des larves du 4^e stade, ils étaient exposés à des concentrations de la formulation de 2, 20 et 200 ng/l pendant 48 h²³⁹. L'activité dephénoloxidase (PO)

^v CE_{50} : Concentration effective: concentration médiane qui cause 50 % de réponse maximale chez l'organisme testé.

et phenoloxidase-total (total PO) augmentaient en présence de *Bti*²³⁹. L'activité de catalase (CAT) augmentait en présence de *Bti*, or il n'y avait pas d'effets sur la peroxydation lipidique (LPO; *lipid peroxidation*), la glutathione totale (tGSH) et l'acétylcholinestérase (AChE)²³⁹. Une augmentation non significative de l'activité glutathione-S-transférase (GST) était observée²³⁹. Le contenu protéinique augmentait de manière significative avec l'exposition au *Bti*, or le contenu lipidique ou des carbohydrates montraient une tendance vers une augmentation (non significative). De plus, il n'y avait pas d'augmentation de l'activité du système de transport d'électrons (ETS)²³⁹. Lavarías *et al.* (2017) ont eu des résultats similaires lors des expériences avec des larves du 3^e et 4^e stade de l'espèce *C. calligraphus* exposées au *Bti* (1200 UTI/mg, sans spécification de la formulation) en laboratoire et ils ont obtenu des CL₅₀ de 38,63, 11,18, 2,67 et 1,5 µg/l après 24, 48, 72 et 96 h, respectivement. Les examens histologiques des cellules de l'épithélium de l'intestin moyen ont révélé qu'une exposition à une concentration de 0,5 µg/l de *Bti* pendant 96 h provoque les premières modifications visibles qui augmentent à 1 µg/l et deviennent sévères à 2 et 4 µg/l²⁴⁰. Ainsi, il y a des études récentes^{195,239,240} qui montrent que le *Bti* peut impacter des chironomes, espèces non ciblées, de manière létale et sublétale à des concentrations inférieures à celles utilisées pour le contrôle des insectes piqueurs. Par ailleurs, Bordalo *et al.* (2020)²³⁹ présentent une liste avec des valeurs de CL₅₀ pour plusieurs espèces de chironomes obtenus dans la littérature, qui sont plusieurs ordres de grandeur plus élevés. Toutes ces données ont en commun que les tests ont été faits sur des larves du 3^e et 4^e stade et ont été publiées entre 1981 et 2012²³⁹. De plus, Lavarías *et al.* (2017)²⁴⁰ présentent une figure recensant, à partir de la littérature, la sensibilité de différents diptères au *Bti*, mais sans présenter les détails relatifs aux références, aux stades larvaires et aux formulations.

La toxicité de la formulation VectoBac WDG et d'une culture des spores et des cristaux de *Bti*, envers des larves du 4^e stade de *C. tepperi*, est dépendante de la température¹³⁸. La toxicité diminue d'un facteur de 6 en passant d'une température de 30 °C à 15 °C¹³⁸. Stevens *et al.* (2004)¹³⁸ mentionnent que l'application de *Bti* dans des conditions d'eau froide pourrait être moins efficace si les organismes ciblés mangent moins activement. Aussi dans le cadre de la même étude, l'augmentation de la densité d'individus, de 10 à 30 par contenant d'essai, ainsi que l'addition d'un substrat de sable, ont significativement augmenté la CL₅₀¹³⁸. Christiansen *et al.* (2004)²⁴¹ mentionnent qu'il faut doubler la dose de VectoBac TP pour réduire des populations des larves des stades 3 et 4 des moustiques *Ochlirotatus squamiger* en Californie quand la température baisse de 14 à 6 °C. Ainsi, il est possible que les basses températures observées au printemps lors de la période de fonte de neige au Québec puissent réduire l'efficacité de *Bti* pour le contrôle des insectes piqueurs. Ceci explique probablement aussi la recommandation du fabricant

d'augmenter le dosage quand l'eau est froide^w. Au Québec, la température de l'eau peut varier de 0 °C au printemps et dépasser 20 °C en été. En conséquence, les changements de température dans l'eau pendant la saison des épandages pourraient avoir un effet sur l'impact du *Bti* sur les organismes aquatiques, c'est-à-dire sur les diptères ciblés ainsi que sur les organismes non visés. Par ailleurs, ces variations d'impact de *Bti* sur les insectes peuvent aussi être reliées aux variations d'activités physiologiques des insectes en lien avec la température.

Un autre aspect à prendre en compte est l'évolution des formulations de *Bti* dans l'eau après l'application. Stevens *et al.* (2005)²⁴² ont trouvé que le VectoBac WDG était le produit le plus efficace pour contrôler les larves de *C. tepperi*, suivi par Aquabac SC et finalement, par Teknar SC. Afin d'être efficace contre les larves de ces chironomidés, le *Bti* doit être disponible à l'interface sédiment-eau où ces larves se nourrissent. Toutefois, les résultats obtenus dans l'étude, quant aux différences d'efficacité des trois formulations, ne permettent pas de déterminer si les observations sont liées aux différentes vitesses de sédimentation et d'accumulation à cette interface²⁴². Par ailleurs, Stevens *et al.* (2005)²⁴² s'inquiètent sur les impacts potentiels sur des espèces non ciblées lors du contrôle des larves de *C. tepperi* dans les rizières. Une étude faite au Québec illustre aussi la toxicité du *Bti* à l'interface sédiment-eau. Le Teknar®, utilisé pour lutter contre les similies (concentration au site d'application : 5,86 mg/l pendant 15 min), sédimente au fond du ruisseau (Back *et al.* 1985)²⁴³. Le produit a réduit l'abondance de chironomidés appartenant aux genres *Eukiefferella* et *Polypedilum*²⁴³. De plus, les chironomes du genre *Phaenopsectra* ont montré des signes de toxicité telle que la lyse des cellules²⁴³. Par ailleurs, la section 4 présente des exemples de persistance et recyclage du *Bti*.

Charbonneau *et al.* (1994)²⁴⁴ ont évalué l'impact de VectoBac G (5,6 kg/ha et 28 kg/ha, c.-à-d. 5x le taux recommandé selon²⁴⁴) sur la survie des macroinvertébrés dans des mésocosmes de deux milieux humides au Minnesota, aux États-Unis. Ils concluent que les épandages n'avaient pas d'impact sur les taxa les plus importants²⁴⁴. De plus, les tests en laboratoire montrent que les larves de *C. riparius* sont affectées par le *Bti* et ils recommandent d'effectuer des études supplémentaires afin de mitiger l'impact des épandages de *Bti* sur des espèces non ciblées²⁴⁴. Un suivi de trois ans de l'impact des épandages avec des taux d'application dans la gamme recommandée pour VectoBac G (11.72 ± 0.64 kg/ha c.-à-d. $234\,400 \pm 12\,800$ ITU/m²) dans des milieux humides du Minnesota a montré une réduction des populations de macroinvertébrés non ciblées lors de la deuxième et de la troisième année d'étude²⁴⁵. Les communautés

^w <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Aqueous> ; consulté 17 juillet 2019.

d'insectes dans des sites non traités étaient dominées par les chironomidés²⁴⁵. Dans les sites traités, leurs densités étaient réduites de 84 % pendant la troisième année du traitement. La densité d'insectes prédateurs y a significativement diminué de 60 % comparativement aux sites non traités, également la troisième année²⁴⁵. Peu d'effets ont été observés pour les macroinvertébrés autres que les insectes. Selon les auteurs, le *Bti* a possiblement eu une toxicité directe seulement sur les diptères nématocères²⁴⁵. Les effets observés sur d'autres groupes d'insectes ont, quant à eux, probablement été le résultat de la perturbation du réseau alimentaire des invertébrés²⁴⁵. Ainsi, la perte des chironomidés dans les réseaux trophiques a pu causer des effets négatifs sur l'intégrité de l'écosystème des milieux humides traités au *Bti* pendant plusieurs années²⁴⁵. Un autre suivi de six ans (1988-1993), également au Minnesota, a montré que l'abondance d'insectes a été réduite de 57 à 83 % et que leur biomasse a diminué de 50 à 83 % dans des milieux humides lors de la deuxième et de la troisième année d'épandages avec VectoBac G (1991 : en moyenne 8,5 kg/ha, 170 000 ITU/m²; 1992 : moy. 11,5 kg/ha, 230 000 ITU/m²; et 1993 : moy. 15 kg/ha, 300 000 ITU/m², au taux d'application dans la gamme recommandée [voir annexe 1])²⁴⁶.

Epp et Morin (2017)²⁴⁷, Epp et al. (2017)²⁴⁸ et (2019)²⁴⁹ ont fait un suivi de l'émergence des insectes, incluant les moustiques et les chironomes, de 2016 à 2018 dans des sites sans et avec épandage de *Bti* (1 ou 2x par an; VectoBac 200G : 5,64 à 5,71 kg/ha ou VectoBac 1200L : 0,50 à 0,68 l/ha) et au besoin avec *Ls* (VectoLex CG : 10,9 à 12 kg/ha, 1x par an) dans le South March Highlands Conservation Forest dans le quartier Kanata North d'Ottawa²⁴⁹. Cette étude est conduite à la demande de la Ville d'Ottawa par l'Université d'Ottawa en coopération avec GDG Environnement, l'entreprise qui a effectué les épandages, pour évaluer l'impact de l'épandage de *Bti* sur l'écosystème²⁴⁹. La profondeur de l'eau des sites de contrôle sans épandage était plus élevée que la profondeur de l'eau dans les sites d'épandage, ceci a peut-être été facilité par les importantes précipitations en 2017 et 2018²⁴⁹. Parmi les variables physico-chimiques, c'est le pH de l'eau qui prédit le mieux l'abondance des Culicidae, alors que le pH, la température et la profondeur d'eau sont les variables qui permettent de prédire l'émergence des chironomidés²⁴⁹. À la suite de l'épandage de *Bti*, il y a eu un déclin important de l'émergence des Culicidae comme prévu, pendant que les moustiques ont continué d'émerger dans des sites de contrôle sans épandage²⁴⁹. L'émergence des chironomidés augmentait d'année en année, et en 2018, l'abondance relative des chironomidés était entre 40 % et >95 % dans les différentes stations (voir la figure 8 dans le rapport²⁴⁹). Par ailleurs, même si à première vue les tendances paraissent similaires, l'année 2018 montre des différences entre les émergences des différents groupes d'organismes non ciblés dans les sites traités au *Bti*, ceux traités dans le passé et dans les sites témoin, p. ex. les araignées, coléoptères, éphémères, hyménoptères, lépidoptères et odonates (voir la figure 5 dans l'article²⁴⁹). Ces différences n'ont toutefois

pas été soulevées par les auteurs. Les variations dans l'émergence des chironomides semblent être liées à d'autres facteurs abiotiques, que le traitement avec *Bti* en 2018 et aussi pour la période de 3 ans combiné²⁴⁹. L'équipe a produit trois petits rapports annuels^{247,248,249}, et le mémoire de maîtrise en lien avec ce projet est disponible depuis peu (Epp 2020)²⁵⁰. Epp (2020) mentionne que la période de sécheresse en 2016, suivi par beaucoup de pluie en 2017 et des précipitations saisonnières en 2018, ont influencé très fortement les conditions physicochimiques pendant l'étude²⁵⁰. L'analyse de composantes principales montrait des différences entre les différents groupes et les différentes années²⁵⁰. L'analyse de redondance montre que l'émergence des chironomides était surtout liée à des variations de pH, la profondeur moyenne de l'eau à la station ainsi que la température de l'eau. Des essais de modélisation n'ont pas permis détecter des effets de traitements avec *Bti* sur les différentes espèces non ciblées échantillonnées pendant l'étude²⁵⁰. Ceci suggère que la variabilité naturelle des variables physicochimique, surtout les variations d'hydropériode, était plus importante que les effets directs de l'épandage de *Bti* sur l'émergence des espèces non ciblées lors de cette étude²⁵⁰.

Vaughan *et al.* (2008)²⁵¹ ont fait des suivis de court et moyen terme (3-4 semaines et saison) afin de mesurer l'impact du contrôle des nuisances causées par des chironomes sur leur abondance après le traitement des sédiments avec de fortes doses de *Bti* (VectoBac 12AS, 15 l/ha; chaque traitement consistait à faire 2 applications près du fond et deux ou trois fois par année) dans un lac urbain eutrophe pendant 3 ans au Royaume-Uni. Ils ont observé une réduction de larves de chironomides jusqu'à 35 % et que les effets des traitements perduraient sur des périodes de plusieurs mois²⁵¹. Ils n'ont pas fait des suivis sur les effets de ces traitements sur la faune non ciblée ainsi que le fonctionnement de l'écosystème.

Comme mentionné, les diptères sont les organismes ayant les plus été étudiés quant aux effets du *Bti*, car il s'agit de l'ordre directement visé par le produit. L'effet du *Bti* sur d'autres insectes a aussi été investigué, mais le nombre de travaux publiés est beaucoup moins important.

L'étude indépendante effectuée de 2006 à 2016 en Camargue, en France (avec un dosage qui dépasse de 14 % le taux recommandé par le fabricant; voir section 5.1), montre des effets du *Bti* sur plusieurs arthropodes, incluant les chironomes. Pour la période de 2009 à 2013, dans les roselières, les épandages ont causé un déclin significatif de l'abondance des chironomes, des coléoptères, des thysanoptères, des araignées et des odonates¹⁷⁵. L'abondance des moustiques et celle des chironomes étaient toutes les deux réduites de 80 % dans le plancton aérien²⁵². L'abondance des chironomes, telle que mesurée avec des pièges, était réduite de 51 % dans les roselières et de 39 % dans des sansouires^{184,252}. Les araignées et les odonates sont des prédateurs des moustiques et des chironomides dans la zone à l'étude. La réduction

des densités de moustiques et de chironomidés, suite aux épandages de *Bti*, explique fort probablement la réduction de l'abondance de ces deux groupes d'arthropodes^{52,186}, les affectant ainsi de manière indirecte.

Par ailleurs, lors de leurs suivis à Ottawa, Epp *et al.* (2019)²⁴⁹ n'ont pas observé de déclin en arthropodes non ciblés. L'abondance des odonates était significativement plus élevée dans des sites traités au *Bti*, suggérant qu'il ne manquait pas de nourriture pour ces prédateurs^{249,250}.

Dans les zones inondables de la vallée du Rhin (voir deuxième étude de cas, section 5.2), plusieurs études ont été effectuées par KABS ou en collaboration avec KABS afin d'évaluer l'impact de l'épandage de *Bti* sur les insectes. Selon le site Web du KABS, Fillinger (1998)²²⁸ a fait une analyse du risque de l'épandage de *Bti* sur l'écosystème en se basant sur des résultats de l'effet de cet insecticide sur les chironomes en laboratoire. Elle a conclu que la démoustication effectuée par KABS ne devait pas affecter les populations de chironomes ni le fonctionnement des réseaux trophiques²²⁸. Or, elle²²⁸ a observé dans des milieux humides jusqu'à 94 % de réduction d'émergence des chironomes dans des sites traités au *Bti* (cité dans¹⁹⁶). Allgeier (2019)²⁵³ et Allgeier *et al.* (2019)¹⁹⁶ mentionnent que les études de terrain (ou en mésocosme) qui n'ont pas observé des impacts de l'épandage de *Bti* sur des chironomes, tel que Liber *et al.* (1998)²⁵⁴, Pont *et al.* (1999)²²², Caquet *et al.* (2011)²⁵⁵, Duchet *et al.* (2015)²²¹ et Lagadic *et al.* (2014)²¹⁹; 2016²²⁰) n'ont pas vérifié si l'abondance des insectes piqueurs était réduite de manière significative. Sans cette information, il y a une possibilité que la dose appliquée fût inefficace dû à des conditions environnementales^{253,196}. En effet, lors d'expériences sur le terrain la quantité de produits administrés par unité de surface est présentée, mais les concentrations finales *in situ* de *Bti* ne sont généralement pas connues¹¹⁴. De plus, les études de terrain ne sont souvent pas assez longues pour voir l'impact de *Bti* sur les populations de chironomes²⁵³. En effet, les suivis devraient durer au moins trois mois après la première application de *Bti*^{196,40}.

Les différentes études montrent qu'il y a une variabilité considérable dans les observations sur la sensibilité des chironomidés au *Bti*. Des études qui montrent des mortalités importantes chez des chironomes à de faibles concentrations de *Bti*^{195,239}, surtout pour les premiers stades larvaires, ainsi qu'à des concentrations utilisés pour le contrôle des insectes piqueurs^{196,226,227,229,234,235,244,245}. D'autres études n'ont pas observé d'effets sur les larves des chironomes^{221,224,225,232}. La différence de sensibilité entre les moustiques (et similies) ainsi que les chironomes au *Bti* est souvent attribuée au pH alcalin des intestins des moustiques (Frouz *et al.* 2007⁵⁶ et références dans⁵⁶). Le pH de l'intestin des larves est seulement connu pour trois espèces de chironomes. Pour *Chironomus crassicaudatus* et *Glyptotendipes paripes*

(stade 4) et il est presque neutre, allant de 6,7 à 7,4 et de 6,9 à 7,6, respectivement⁵⁶. Pour *C. plumosus* (stade 4) un pH de 7,7 à 8,2 a été mesuré à l'intérieur d'un bol alimentaire (*food bolus*) et entre 7,4 et 7,7 dans le lumen de l'intestin²⁵⁶. Tel que mentionné, le CL₅₀ pour *G. paripes* se trouve dans la gamme de concentrations recommandées de VectoBac WDG pour le contrôle de moustiques²³⁵ et les larves de stade 1 de cette espèce étaient 10 à 14 fois plus sensible au *Bti* que les larves du stade 3²³⁶, mais des concentrations élevées de Bactimos WP n'affectaient pas les larves de *C. plumosus*²¹⁸. Ainsi un pH dans le tractus digestif plutôt neutre ne semble pas protéger *G. paripes* des effets du *Bti*. Ceci suggère qu'il y a probablement un autre mécanisme ou un récepteur qui rend l'épithélium de l'intestin des chironomidés sensible aux toxines du *Bti* et causant la mortalité. Il y a présentement très peu d'études détaillées sur des impacts physiologiques²³⁹ ou histopathologiques de *Bti* sur les larves de chironomidés et aucune publication sur l'impact par la suite au stade adulte. Ces impacts ne se manifestent pas seulement par la mortalité larvaire ou une réduction de l'émergence, ils peuvent aussi affecter la reproduction et ainsi modifier l'intégrité de l'écosystème.

Une étude de courte durée (20 jours) sur l'effet du VectoBac 12AS (1,2 l/ha ou 153 480 ITU/m²; taux d'application recommandé), dans un marais salé éphémère en Australie, a démontré que l'abondance et la composition des communautés d'arthropodes aquatiques et terrestres n'avaient pas été perturbée²⁵⁷. Les arthropodes étudiés étaient des collemboles, des acariens, des hyménoptères, des coléoptères, des hémiptères, des diptères et des copépodes²⁵⁷. Néanmoins, les populations de copépodes ont été réduites après l'épandage dans un des deux sites expérimentaux étudiés²⁵⁷. Dans ce contexte, le taux d'application utilisé au Québec^x pourrait aussi affecter les copépodes, selon la concentration finale de l'insecticide dans l'eau (voir annexe 1).

Babin *et al.* (2019)²⁵⁸ ont observé que des concentrations jusqu'à 10⁸ CFU/g de *Bti* (VectoBac WG) ou *Btk* (Delfin A, Delfin B et Scutello DF (Dipel)) n'impactent pas les larves de drosophiles (mouches à fruit; *Drosophila melanogaster*; Diptera : Drosophilidae), une espèce non ciblée. Par contre, une concentration 10⁹ CFU/g de *Bti* ou *Btk* résulte en une augmentation du temps de développement et une réduction de près de 100 % de métamorphose²⁵⁸. De plus, *Btk* (Delfin A) affecte aussi la métamorphose de sept autres espèces de drosophiles : *D. simulans*, *D. yakuba*, *D. subobscura*, *D. busckii*, *D. hydei*, *D. suzukii*, et *D. immigrans*²⁵⁸. Par ailleurs, le *Btk* (Bac-Control WP, 16 000 ITU/mg, formulation utilisée en agriculture au Brésil) affecte l'émergence de *Chironomus xanthus* (espèce non ciblée dans milieu aquatique non ciblé),

^x Taux d'application de produits à base de Bti au Québec : dose minimale = 60 000 ITU/m²; dose maximale = 200 000 ITU/m². Dans une profondeur d'eau de 10 cm, les concentrations dans les zones visées se placeraient entre 600 ITU/l à 2 000 ITU.¹¹⁴

à toutes les concentrations testées (8 à 216 µg ingrédient actif/l) quand il se trouve dans l'eau (Pereira Dornelas *et al.* 2020²⁵⁹).

La notonecte ou abeille de l'eau *Buenoa tarsalis* (Hemiptera: Notonectidae), qui est un prédateur de larves de moustiques, n'est pas affecté directement par le *Bti* (formulation Bt-Horus SC, en vente au Brésil, contient 12 g de *Bti*/l, 1 200 ITU/mg) à des concentrations 0,25 et 25 mg ingrédient actif/l (dosage selon l'étiquette pour contrôle de moustiques; Gutiérrez *et al.* 2017²⁶⁰). Par contre, il y avait une augmentation de la prédation par le notonecte²⁶⁰. Soulignons aussi que l'exposition au *Bt* (variété non spécifiée) par injection dans l'abdomen (3 µl à 0,55, 1,83 et 5,50 IU/ml) de la sauterelle *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acrididae) résulte en des modifications des chromosomes dans les spermatogonies avec une relation dose-effet significative et est probablement génotoxique²⁶¹. Par ailleurs, ce type d'exposition très intrusive est très éloigné des modes d'exposition que l'on retrouve dans la nature.

Quatre expériences réalisées dans la rivière de Susquehanna en Pennsylvanie (États-Unis), suite à l'épandage de VectoBac AS/12AS pour le contrôle des mouches noires, ont montré une augmentation de la densité d'organismes à la dérive^y dans la rivière pendant au moins une des périodes d'échantillonnage pour 26 taxa de macroinvertébrés non-ciblés²⁶². Toutefois, ce n'étaient pas toujours les mêmes espèces qui ont eu la même réponse pendant les différents tests²⁶². Ainsi Jackson *et al.* (2002)²⁶² concluent que la majorité des macroinvertébrés ne semblent pas affectés par le *Bti* à des concentrations de 13 à 24 min-mg/l (15 600 à 28 800 min-ITU/l) appliquées qu'une fois. Par contre ils ont quand même observé une augmentation de la densité de chironomes à la dérive dans deux des quatre expériences (*Rheotanytarsus sp.*) et dans trois expériences (*Polypedilum sp.*)²⁶². Ceci suggère que certaines espèces de chironomes pourraient être affectées par une forte dose de *Bti* sur une courte période comme lorsqu'il est appliqué pour le contrôle des simules.

Fourcy *et al.* (2002)²⁶³ ont observé que l'exposition *in situ* de *Nereis diversicolor* (Annelidae) au VectoBac 12AS résulte 24 h et 72 h après l'épandage à un taux de 1,0 l/ha (1.28×10^9 ITU/ha; répété 14 fois) en des variations aléatoires des activités des enzymes acétylcholinestérase et α - et β -carboxylestérase.

Finalement, Fang (2010)²⁶⁴, dans son article "*A world without mosquitos*" sur les impacts de l'élimination des moustiques comme vecteur de maladies, écrit que l'impact de l'élimination de la biomasse de moustiques sur des organismes aquatiques carnivores, les réseaux trophiques et le fonctionnement de

^y Dérive (*drift*) : Suite à l'utilisation du *Bti*, certains organismes meurent ou perdent leur capacité de s'agripper aux rochers et au périphyton ainsi les courants d'eau les emmènent, ils roulent sur le fond de la rivière.

l'écosystème devrait être faible, car d'autres organismes moins nocifs pour les humains pourront les remplacer²⁶⁴. Fang (2010)²⁶⁴ cite seulement 6 publications dans cet article, mais elle a consulté plusieurs intervenants qui travaillent majoritairement dans le domaine de contrôle des vecteurs de maladies pour la rédaction de cet article et peu de spécialistes en écologie. Or dans cet article, elle²⁶⁴ ne mentionne pas le potentiel des dommages collatéraux et cumulatifs sur le fonctionnement des écosystèmes comme la mortalité des espèces non ciblées, qui peuvent être le groupe d'insectes émergents dominants, tel que présenté ci-haut. Aussi la qualité de cette nourriture alternative n'est pas nécessairement aussi bonne que celle éliminée (p. ex. moustiques et chironomes). Ce qui peut occasionner des modifications des réseaux trophiques ainsi que l'intégrité de l'écosystème (voir section 10).

Effets indirects

Tel que l'a révélé l'étude en Camargue, les araignées et les odonates, qui sont des prédateurs des moustiques et des chironomidés, semblent être affectés de manière indirecte, par la réduction des abondances de ces organismes, suite aux épandages de *Bti*⁵². Contrairement aux résultats exposés par l'étude indépendante dans le parc de la Camargue, Pfitzner *et al.* (2015)²⁶⁵; les auteurs sont employés du KABS) ont trouvé que dans les plaines inondables du fleuve Rhin en Allemagne, les moustiques ne semblent pas être une source de nourriture importante pour les odonates adultes. Seulement 10 % (4 sur 41) des libellules et des demoiselles, attrapées entre octobre 1998 et juillet 1999, avaient des traces de moustiques dans leur contenu stomacal, obtenu par immunoblot²⁶⁵. De plus, selon les auteurs, les stades larvaires des odonates, ou naïades, se développent rarement dans les flaques d'eau éphémères des plaines inondables. Ils arrivent à la conclusion que les larves de moustiques ne jouent pas un rôle important dans leur diète²⁶⁵ et que la démoustication ne devrait pas avoir d'impact sur les stades adultes des Odonates. Or, ils²⁶⁵ n'ont pas inclus les chironomidés dans leurs analyses. On remarque aussi que l'échantillon d'odonates utilisé par Pfitzner *et al.* (2015) était assez faible (seulement 41 individus adultes) à cause de restrictions sur ces espèces protégées²⁶⁵. Or, Jakob et Poulin (2016)¹⁸⁴ ont observés 432 spécimens pendant leurs transects (100 m et à l'intérieur d'une bande de 5 m de chaque côté) dans la Camargue en lien avec l'abondance des chironomes sur une période de 5 ans¹⁸⁴, et quelques 3760 odonates ont été inventoriés de 2009 à 2015¹⁷⁴. Pendant ces 7 ans, le nombre d'espèces observées ainsi que le nombre d'individus étaient significativement plus petit dans les zones traitées au *Bti*¹⁷⁴. Par ailleurs, les données présentées par Poulin et Lefebvre (2018)¹⁷⁶ ont été obtenues en faisant 500 coups de filet

entomologiques à travers la végétation durant la période 2007-2015 dans des sites avec et sans épandage de *Bti*. Le nombre d'odonates était aussi plus faible dans les sites traités, mais la différence n'était pas significative¹⁷⁶.

Lors de leurs suivis à Ottawa, Epp *et al.* (2019)²⁴⁹ et Epp (2020)²⁵⁰ n'ont pas observé de déclin en arthropodes non ciblés et l'abondance des odonates était significativement plus élevée dans des sites traités au *Bti*, suggérant qu'il ne manquait pas de nourriture pour ces prédateurs.

Dans des milieux humides du Minnesota, une réduction des populations de macroinvertébrés non ciblées était observée lors de la deuxième et de la troisième année d'étude²⁴⁵. Les communautés d'insectes dans des sites non traités étaient dominées par les chironomides²⁴⁵. Dans les sites traités, leurs densités étaient réduites de 84 % pendant la troisième année du traitement. La densité d'insectes prédateurs y a significativement diminué de 60 % comparativement aux sites non traités, également la troisième année²⁴⁵. Peu d'effets ont été observés pour les macroinvertébrés autres que les insectes.

Wipfli et Meritt (1994)²⁶⁶ ont étudié l'effet de contrôle de simules dans des cours d'eau au Michigan, USA, sur les naïades des plécoptères *Acroneuria lycorias* and *Paragnetina media* (Plecoptera; mouches de pierre) qui se nourrissent des larves de mouches noires. Le nombre de proies ingérées par *A. lycorias* a diminué de manière significative après l'élimination des larves de mouches noires²⁶⁶. Par contre le nombre de proies dans le tractus digestif de *P. media* n'était pas affecté²⁶⁶. Lors des expériences de choix *A. lycorias* et *P. media* ne montraient pas de préférences pour des larves de mouches noires ou des larves d'éphémères²⁶⁶. La croissance des nymphes d'*A. lycorias* n'était pas affectée par la densité des larves de mouches noires²⁶⁶. Par contre, lors des expériences de choix avec d'autres prédateurs, *Isoperla signata* et *I. dicala* (Plecoptera: Perlodidae) ingéraient de manière significative plus de larves de *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae) que de larves de *Baetis flavistriga* (Ephemeroptera: Baetidae) ou *Epeorus vitrea* (Heptageniidae)²⁶⁶. Ainsi le contrôle de mouches noires affecte de manière indirecte et différemment les prédateurs. Les prédateurs spécialistes étaient plus affectés que les espèces généralistes²⁶⁶. Comme mentionné précédemment, la notonecte ou abeille de l'eau *Buenoa tarsalis* (Hemiptera: Notonectidae) est un prédateur de larves de moustiques, qui n'était pas affecté directement par le *Bti*, mais il y avait une augmentation de la prédation par le notonecte²⁶⁰. Par contre, il n'y a pas d'indice qu'il y a un lien entre cette augmentation de la prédation et la présence de *Bti*.

Tendance d'abondances des insectes à l'échelle mondiale

On observe à l'échelle mondiale un déclin important de la biodiversité et de l'abondance des invertébrés aquatiques et terrestres^{267,268,269,270}. Bijleveld van Lexmond *et al.* (2014)²⁷¹ parlent même d'un effondrement global des populations des différents insectes qui a commencé en 1950. Cette diminution des populations est principalement le résultat de l'intensification de l'agriculture, de la perte des habitats, de l'utilisation massive de pesticides, de l'augmentation des infrastructures routières et du trafic, ainsi que de la pollution lumineuse et du dépôt de différentes formes d'azote atmosphérique²⁷¹. D'autres études ont montré qu'entre 1989 et 2013 la biomasse d'insectes a diminué de presque 80 %²⁷²⁻²⁷⁴. Lors d'une étude effectuée sur une période de 27 ans (1989-2016), dans des zones protégées pour la conservation de la nature en Allemagne²⁷⁵, un déclin saisonnier de 76 % et estival de 82 % de la biomasse d'insectes volants a été démontré. Ce déclin est observé dans tout type d'habitat et les changements au niveau climatique, dans l'utilisation des sols et les caractéristiques de l'habitat ne peuvent pas l'expliquer²⁷⁵. Ces déclins en abondance, biomasse et diversité d'arthropodes ont été confirmés lors d'une autre étude dans trois régions en Allemagne dans des prairies (150 sites) et des forêts (140 sites) couvrant la période de 2008 à 2017 (Seibold *et al.* 2019²⁷⁶). Les déclins ont été observés à tous les niveaux trophiques²⁷⁶. Plus récemment, Baranov *et al.* (2020)²⁷⁷ ont observé dans un petit cours d'eau de tête d'une réserve naturelle en Allemagne, un déclin de l'abondance des insectes aquatiques de 81,6 % sur une période de 42 ans (1969-2010). Ce cours d'eau est éloigné de tout impact anthropique autre que des changements climatiques, qui ont causé une augmentation de température de 1,88 °C et un changement du régime de débit. Ce déclin d'abondance d'insectes aquatiques était accompagné par une augmentation de la diversité. De plus, les structures trophiques de la communauté ainsi que la phénologie ont changé. La période d'émergence était plus longue de 15,2 jours en 2010, mais avec le maximum de l'émergence 13,4 jours plus tôt²⁷⁷. Dans le nord du Danemark, un déclin de 80 % des insectes aériens a été observé entre 1997 et 2017 (Møller 2019)²⁷⁸. Des changements similaires ont aussi été observés ailleurs dans le monde. Sur une période de 35 ans, il y a eu un déclin de la biomasse d'insectes entre 75 % et 98 % à Puerto Rico, modifiant les réseaux trophiques forestiers (Lister *et Garcia* 2018²⁷⁹). En Amérique du Nord, il y a peu de suivis à long terme sur l'abondance des populations d'insectes. Dans le sud de l'Ontario, il y a eu un appauvrissement de la communauté de bourdons en 35 ans²⁸⁰. Wepprich *et al.* (2019)²⁸¹ ont confirmé que les populations de 81 espèces de lépidoptères ont subi un déclin de 33 % en 20 ans en Ohio, USA. Ainsi, les observations européennes semblent se confirmer pour l'Amérique du nord²⁸¹. Il est peu probable que des réductions aussi importantes ne provoquent pas des modifications dans les écosystèmes et dans

les réseaux trophiques²⁷⁵. Cardoso *et al.* (2020)²⁸² ont fait une revue de littérature sur les causes des déclin des populations d'insectes au niveau mondial et concluent que les facteurs importants sont d'origine anthropique telle que la perte d'habitat, la pollution et les produits toxiques, les espèces envahissantes, les changements climatiques, la surexploitation ainsi que la co-extinction des espèces qui dépendent d'autres espèces.

Par ailleurs, Klink *et al.* (2020)²⁸³ ont fait une métaanalyse avec les données de 166 suivies longs termes (1667 sites sur 10 à 81 ans) de l'abondance et la biomasse des insectes aquatiques et terrestres (incluant les araignées) au niveau mondial. Il y a une variation importante même entre sites adjacents, mais ils confirment qu'il y a en un déclin important de l'abondance et la biomasse des insectes terrestres²⁸³. Ce déclin représente en moyenne 9 % par décennie²⁸³. Toutefois, ils ont obtenu une augmentation de 11 % par décennie pour les insectes aquatiques²⁸³. Ceci est probablement le résultat, au moins en partie, de la récupération des populations affectées par la pollution dans le passé suite à une amélioration de la qualité de l'eau après l'adaptation des politiques environnementales depuis les années 1970²⁸³. Or, tel que mentionné précédemment, Baranov *et al.* (2020)²⁷⁷ ont observé dans un petit cours d'eau de tête d'une réserve naturelle et à l'abri des pesticides, en Allemagne, un déclin de l'abondance des insectes aquatiques de 81,6 % sur une période de 42 ans (1969-2010). De plus, les changements climatiques ainsi que l'eutrophisation ont peut-être contribué à l'augmentation de la productivité de certains écosystèmes²⁸³. Dans leur publication ils²⁸³ ne traitent pas du fait qu'une partie des insectes terrestres peuvent avoir une phase aquatique, telle que les moustiques et les simules, et ils ne mentionnent pas s'il y a eu des changements dans leurs abondances.

Par ailleurs, ces changements graduels sur de longues périodes peuvent mener au syndrome de la référence glissante ("shifting baseline syndrome")^{284,285}. Ce concept décrit la dérive inhérente d'une évaluation des changements significatifs d'un écosystème en regard d'un état initial, lui-même distinct d'un état originel, provoqué par la méconnaissance, voire l'ignorance, des observations historiques^{284,285}. Ainsi chaque génération de biologiste a tendance de considérer comme le point de référence initial d'un écosystème celui qu'il a connu depuis sa naissance ou depuis le début de sa carrière^{284,285}. Ceci peut avoir comme effet que la population en général, voire les spécialistes de conservation de biodiversité ne se rendent pas compte qu'il y a une perte de biodiversité ou une dégradation de l'intégrité de l'écosystème de plus en plus importante avec le temps, car la nouvelle génération prend appui sur l'état dégradé de l'écosystème qu'elle a toujours connu^{284,285}. Ce concept montre aussi l'importance des suivis à long terme

de la biodiversité et de l'intégrité de l'écosystème²⁸⁴. Malheureusement, aucun des suivis présentés dans cette section n'est assez long pour inclure l'état des écosystèmes sans perturbation.

6.2. CONCLUSION

Les résultats présentés montrent qu'il n'y a pas de consensus scientifique sur les impacts directs et indirects des formulations de *Bti* sur les arthropodes non ciblés. Il en est de même pour les impacts indirects sur les réseaux trophiques, comme une diminution des arthropodes prédateurs aquatiques et terrestres, associés à l'élimination des moustiques, des simuliés, ainsi qu'éventuellement d'autres organismes tels les chironomes. En plus de la mortalité, des études de laboratoire récentes montrent des effets physiologiques chez des chironomes, tel que l'augmentation de l'activité d'enzymes de détoxification, exposés à des concentrations subletales de *Bti* sans dépassement des concentrations recommandées pour le contrôle des insectes piqueurs.

Comme mentionné, les arthropodes non ciblés par le *Bti* et les plus étudiés sont les chironomes. Bien que cela puisse nous donner des pistes sur les potentiels effets du *Bti* sur ce groupe d'insectes au Québec, le manque de recherches sur d'autres arthropodes des milieux aquatiques limite la prévision des impacts des épandages sur des organismes comme les arthropodes prédateurs.

Un des résultats intéressants, issus d'une étude de laboratoire, relève de la plus grande susceptibilité des jeunes stades larvaires des chironomes au *Bti*, par rapport aux troisième et quatrième stades¹⁹⁵. Des résultats similaires ont été observés chez des larves de moustiques. Les auteurs des publications des années 1990 mentionnaient que les jeunes larves de moustiques et de chironomes sont fragiles et difficiles à manipuler²⁵, mais le premier stade larvaire de *C. riparius* est utilisé depuis des décennies pour des essais standardisés pour tester la toxicité des sédiments²³⁸. La vulnérabilité des jeunes stades larvaires des insectes est documentée dans la littérature, car ils sont plus sensibles à concentration égale⁸¹. Ainsi, pour une même concentration, un petit individu sera exposé à une plus grande quantité de substance toxique qu'un individu qui a une masse corporelle plus grande⁸¹. Il faut considérer aussi qu'à l'intérieur de la famille Chironomidae, certaines espèces exhibent différentes sensibilités au *Bti*²³⁴. En effet, la sensibilité différentielle des diverses espèces aux composés toxiques a été largement démontrée pour plusieurs arthropodes, même pour des espèces appartenant à une même famille^{81,286}. Ces différences de sensibilités entre espèces sont probablement en lien avec les conditions de pH de l'intestin moyen, ce qui détermine l'activation des endotoxines du *Bti*^{226,25}, ainsi que la présence de cellules vulnérables à l'insecticide dans l'épithélium de l'intestin²²⁶. Mais il y a aussi des espèces sensibles au *Bti* avec un pH

plutôt neutre. Les caractéristiques écologiques de chaque espèce affectent leur sensibilité au *Bti*. Par exemple, les larves de chironomes qui se nourrissent de matière organique à l'interface eau-sédiments peuvent être plus affectées par cet insecticide que les espèces prédatrices¹⁹⁶. C'est le cas de trois genres de chironomidés (*Eukiefferella*, *Polypedilum* et *Phaenopsectra*), lesquels ont été affectés par le *Bti* au Québec²⁴³. Comme il n'y a pas consensus dans la communauté scientifique sur la sensibilité directe au *Bti* des diptères, des études pourraient être effectuées avec des espèces abondantes, qui jouent un rôle important dans les réseaux trophiques, ainsi que des espèces rares dans les écosystèmes au Québec, tant sur les moustiques que sur les chironomes, afin de tenir compte de notre réalité géographique, climatique, et écosystémique. De plus, il n'y a pas suffisamment de données pour établir l'abondance relative des chironomes, des moustiques ainsi que des simuliés parmi les insectes émergents au Québec.

Les études faites sur le terrain sont aussi contradictoires probablement en raison de la complexité des écosystèmes qui rend difficile la mesure de l'impact du *Bti* à long terme sur les populations. Plusieurs études n'ont pas trouvé d'effets sur l'abondance et la diversité des arthropodes non ciblés. Toutefois, il faut remarquer que parfois, ces effets apparaissent seulement après un, voire deux ou trois ans^{175,184,245}. Ainsi, les suivis doivent être assez longs pour pouvoir décerner ces effets. De plus, le *Bti* peut persister et proliférer dans certains types de milieux contribuant à une augmentation des impacts. Pour ces raisons, un suivi à long terme (trois ans et plus) sur plusieurs variables environnementales est à privilégier. Comme mentionné par plusieurs auteurs, les impacts écologiques de l'application des pesticides pendant des décennies, tels que le *Bti*, ne sont pas prévisibles, car il manque d'études toxicologiques et écologiques rigoureuses à long terme^{196,246}. Toutefois, on peut citer l'étude indépendante réalisée en Camargue dans le sud de la France (voir section 5.1). Dans ce cas, les effets des épandages de *Bti* ont été démontrés sur les communautés d'arthropodes (chironomes, coléoptères, thysanoptères, araignées et odonates)¹⁷⁵, la réduction des moustiques et des chironomes par le *Bti*, ayant des impacts indirects sur les réseaux trophiques et la productivité des écosystèmes.

Il est par ailleurs pertinent de souligner qu'une analyse des effets des concentrations de *Bti* sur des chironomes a été faite (annexe 1). Cabrera (2018)¹¹⁴ conclut que ce groupe d'insectes pourrait être à risque, car les taux d'application de *Bti* au Québec (60 000 à 200 000 ITU/m²) et leurs concentrations potentielles dans l'eau pourraient affecter certaines espèces. De plus, l'étude de Back *et al.* (1985)²⁴³ indique que certaines larves d'espèces de chironomes présentes au Québec et associées à l'interface eau-sédiments pourraient être affectées, car c'est dans cette zone que les spores de *Bti* s'accumulent.

À l'échelle mondiale, l'utilisation du *Bti* pour le contrôle des insectes piqueurs ne représente que des superficies restreintes ne permettant pas d'expliquer le déclin des populations d'insectes. Par ailleurs, l'impact du *Bti* est moins drastique comparé aux insecticides chimiques systémiques ce qui est moins dommageable pour les écosystèmes. Toutefois, la vulnérabilité actuelle des populations d'insectes justifie la mise en place de mesures additionnelles de réduction des stress anthropiques qui risqueraient d'accentuer ce phénomène. L'évaluation des impacts au Québec du *Bti* sur les arthropodes, le fonctionnement des écosystèmes et les réseaux trophiques est impérative afin d'adopter les meilleures pratiques visant à minimiser les effets indésirables de cet insecticide.

Comme mentionné dans l'annexe 1, cette revue de littérature sur les effets non désirés du *Bti* devrait constituer un repère pour les actions à entreprendre au Québec. À court terme, il est souhaitable de commencer le suivi des populations d'arthropodes et d'autres organismes aquatiques non ciblés par les épandages. Il est essentiel qu'un tel suivi soit fait par un organisme indépendant. Les données recueillies serviront à orienter l'utilisation du *Bti*. En complément, des caractéristiques particulières des écosystèmes, ainsi que des organismes uniques au Québec demandent des recherches spécifiques. Ces études pourraient considérer les aspects suivants :

- a. Identifier des écosystèmes de référence au Québec, préférablement dans le sud de la province, qui n'ont jamais été traités au *Bti*, afin d'en connaître la biodiversité naturelle et de les conserver.
- b. Évaluer la sensibilité des espèces-clés d'arthropodes (p. ex. la toxicité aigüe et chronique) dans les écosystèmes du Québec au *Bti* (p. ex. des espèces servant de nourriture pour les amphibiens, les oiseaux, les chauves-souris et d'autres arthropodes). Particulièrement, des études sur l'effet de cet insecticide sur les espèces de chironomes dans la province sont nécessaires.
- c. Évaluer les impacts directs (mortalité, effets sublétaux) et indirects (effets sur les réseaux trophiques et sur les interactions des populations des arthropodes) du *Bti* sur les arthropodes non ciblés et impacts sur plusieurs générations (étude de terrain).
- d. Évaluer les impacts indirects causés par la diminution des proies (insectes émergents) sur les organismes insectivores, tels les insectes prédateurs, les oiseaux, les chauves-souris, etc., le fonctionnement des réseaux trophiques modifiés et la productivité de l'écosystème (taux de reproduction de ces organismes) sur plusieurs années (étude de terrain).
- e. Étudier, en laboratoire, la toxicité des formulations de *Bti* utilisées au Québec (toxicité et facteurs biotiques, comportement des formulations dans l'eau) sur les organismes aquatiques non ciblés.

- f. Démarrer des programmes de suivi en milieux urbains, périurbains et ruraux afin de suivre l'évolution des populations d'insectes aquatiques, émergents, terrestres et aériens au Québec.

7. Autres organismes aquatiques

Les études concernant les effets du *Bti* sur des organismes aquatiques, autres que les insectes, ne sont pas abondantes et la plupart d'entre elles portent sur les crustacés, lesquels peuvent constituer une portion importante de la biodiversité des milieux humides (p. ex. dans la baie McLaurin à Gatineau)²⁸⁷.

7.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs

Morawscik (1983)²¹⁷ a fait, il y a plus de 35 ans, la plus importante étude sur l'impact des cultures de *Bti* (toxicité aiguë) sur plus de 60 espèces aquatiques (turbellariés (vers plats), mollusques, annélides, acariens, crustacés, insectes, poissons et amphibiens) à des concentrations élevées (généralement 1,8 à 180 mg/l avec quelques fois de concentrations plus faibles²¹⁷ avec une puissance biologique de 1 300 à 4 700 ITU/mg; voir annexe 1). Ces travaux ont été faits au début de KABS. Aucun impact du *Bti* n'a été dénoté sur ces organismes, sauf pour certains chironomes²¹⁷.

Contrairement aux autres prédateurs, de nombreux crustacés sont capables de coloniser des étangs permanents ainsi que des étangs vernaux²⁸⁸, où l'on trouve aussi des larves de moustiques. Il a été démontré que non seulement la présence de prédateurs, mais aussi de compétiteurs, telle que des crustacés, peuvent limiter la croissance des populations de larves de moustiques²⁸⁹. Par exemple, la prédation et la compétition sont deux mécanismes qui influencent l'oviposition, l'abondance et le développement des larves de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae)²⁸⁹. En effet, la prédation des larves par des crustacés appartenant à l'ordre Cyclopoida et à la classe Ostracoda a été documentée, ainsi que la compétition pour la nourriture par des crustacés filtrants, tels que les cladocères²⁸⁹. De plus, les moustiques femelles choisissent les sites de reproduction avec soin en évitant les eaux déjà colonisées par des prédateurs et des compétiteurs et en préférant des eaux avec des concentrations élevées d'éléments nutritifs²⁸⁹. Ainsi, les sites avec de faibles concentrations en ressources nutritionnelles dues à la présence de prédateurs et de compétiteurs reçoivent moins d'œufs²⁸⁹. D'ailleurs, les communautés de

crustacés avec une plus grande diversité occupent davantage de niches écologiques²⁸⁹. Ceci réduit les ressources disponibles pour chaque compétiteur et donc aussi pour les larves de moustiques²⁸⁹. Pour les moustiques, cette situation peut se traduire en une période plus longue avant la métamorphose et en une taille plus petite au stade adulte²⁸⁹. Les larves de *Cx. pipiens* peuvent changer de stratégie alimentaire afin d'éviter la compétition, passant d'organisme filtreur de phytoplancton à organisme brouteur du périphyton²⁸⁹. Cette stratégie n'est pas possible quand les ostracodes occupent déjà cette niche. De plus, certains ostracodes peuvent même se nourrir de larves de moustiques²⁸⁹. Ainsi, une communauté diversifiée de crustacés est plus efficace pour limiter l'abondance des larves de moustiques qu'une communauté dominée par une seule espèce²⁸⁹. La biodiversité est généralement plus élevée dans des écosystèmes intègres. Ainsi, le maintien et la restauration de l'intégrité des écosystèmes sont donc des atouts pour le contrôle des insectes piqueurs.

Des études sur l'utilisation du *Bti* combinée avec l'introduction de crustacés compétiteurs ont montré que la colonisation par le moustique *Cx. pipiens*, en termes d'oviposition, d'abondance et de développement des larves, diminue avec l'augmentation de la diversité des taxa de crustacés. La présence de crustacés accroît la sensibilité de *Cx. pipiens* au *Bti* avec un facteur de 10 et retarde sa recolonisation²⁹⁰. À court terme, l'effet du *Bti* limite les populations de *Cx. pipiens*²⁹⁰. Par contre, à long terme, c'est la diversité de la communauté des crustacés qui détermine l'abondance de ce moustique^{289,290}. Ceci montre à quel point la diversité des organismes de milieux aquatiques contribue à limiter les populations de moustiques. Dans ce contexte, il est encore plus souhaitable d'éviter que le *Bti* n'affecte les crustacés.

Des études indiquent que le *Bti* n'a pas d'effet létal important sur les cladocères²¹⁷. Milam *et al.* (2000)²⁹¹ ont montré que le CL₅₀ – 48 h du *Bti* liquide (la formulation n'est pas spécifiée) pour *Daphnia pulex* (Cladocera : Daphniidae) était plus faible que celle pour les larves de moustiques de l'espèce *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera : Culicidae) (3,9 et 7,6 µg/l, respectivement – le calcul des ITU n'est pas possible, car la formulation n'est pas mentionnée). Or, dans le cas du *Bti* granulaire (la formulation n'est pas spécifiée non plus), le CL₅₀ pour *D. pulex* et *D. magna* était de plusieurs ordres de grandeur plus élevés (626,6 mg/l)²⁹¹. Dans l'article, les auteurs²⁹¹ ont axé leur discussion sur l'ingrédient actif et ils ne mentionnent pas la possibilité que les autres ingrédients de la formulation puissent avoir un impact.

Olmo *et al.* (2016)²⁹² ont utilisé deux copépodes (nauplius et adultes de *Tropocyclops prasinus* et *Acanthocyclops americanus*), et trois cladocères (*Ceriodaphnia reticulata*, *Chydorus sphaericus*, *D. cf. pulex*) présents dans des milieux humides où l'on fait l'épandage de *Bti* (en Espagne). Ces espèces, qui jouent un rôle important en termes de biomasse et un rôle écologique dans ces milieux humides, ne sont pas toutes

utilisées pour évaluer les pesticides en vue d'une homologation. Les impacts aigus et chroniques de la formulation VectoBac 12AS ont été évalués à des concentrations 0, 5, 25, 50, 250, et 500 mg/l pendant 15 jours²⁹². Il y avait un nombre significatif de mortalités, même aux plus faibles concentrations testées, sauf pour *Daphnia cf. pulex*²⁹². Malgré la variabilité des résultats, ils ont conclu que le contrôle des moustiques pourrait avoir un impact important dans ces écosystèmes à des dosages utilisés lors des épandages²⁹².

Trois études effectuées par, entre autres, des employées de l'EID Méditerranée, sur les impacts à court terme en microcosmes et en laboratoire ont démontré que le VectoBac 12AS (0,16 et 0,50 µl/l ou 205 et 640 ITU/l, taux d'application recommandé, voir annexe 1) n'affecte pas la croissance populationnelle de deux espèces de daphnies, *D. pulex* et *D. magna*^{293,294,295}. Également, une étude de laboratoire sur un troisième cladocère, *Simocephalus vetulus* (Cladocera : Daphniidae), n'a pas montré de mortalité suite à l'exposition à la formulation Bactimos WP (0,4 mg/l ou 2 400 ITU/l), mais des changements histopathologiques similaires à ceux observés chez les diptères ont été observés²²⁶. Ces changements étaient maximaux après 16 h. Cependant, 24 h après l'exposition au *Bti*, les cellules atteintes ont commencé à se rétablir et par la suite, elles semblaient de nouveau normales²²⁶. Rey *et al.* (1998)²²⁶ attribuent cette moindre innocuité du *Bti* sur *S. vetulus* au manque de cellules vulnérables à l'insecticide dans l'épithélium de leur intestin, ainsi qu'à la rapidité de renouvellement de cet épithélium.

Dans des mésocosmes en Bretagne, le VectoBac 12AS (0,16 et 0,50 µl/l ou 205 ITU/l et 640 ITU/l; voir annexe 1) n'a pas affecté l'abondance de *D. pulex*, mais il y a eu un effet sur la distribution de la taille des individus²⁹³. Après 21 jours où les individus jeunes et plus petits, qui dominaient la population au début, n'étaient plus le groupe dominant de la population²⁹³. Dans des mésocosmes, cette fois-ci en Camargue (voir section 5.1), la formulation de VectoBac 12AS (205 ITU/l et 640 ITU/l; voir annexe 1) n'a pas affecté l'abondance de *D. magna*²⁹⁴. Les auteurs concluent que la croissance du cladocère n'était pas influencée par le *Bti*, en contraste avec l'étude mentionnée précédemment sur *D. pulex*²⁹³. Les mêmes auteurs²⁹⁵ ont aussi comparé des résultats obtenus en mésocosmes avec ceux obtenus en laboratoire pour les deux mêmes espèces de daphnies exposées au VectoBac 12AS (640 ITU/l; voir annexe 1)²⁹⁵. Ils ont conclu que le *Bti* n'affecte pas *D. magna* ni *D. pulex*²⁹⁵.

Duchet *et al.* (2010)²⁹⁵ suggèrent toutefois qu'il y a une possibilité que le *Bti* puisse avoir des effets hormétiques sur les daphnies, c.-à-d. qui peuvent les affecter à de faibles concentrations. Machado *et al.* (2016)⁹³ ont démontré que *D. magna* est très sensible aux doses intermédiaires de DiPel ES, une formulation de *Btk* et non de *Bti*. La courbe dose-réponse est non-monotone, mais plutôt en forme d'« U-

inversé » pour l'immobilité et la mortalité pour les jeunes stades (néonates). Chez les adultes, la mobilité était affectée de la même manière, mais il n'y avait pas de mortalité significative⁹³. La valeur CE_{50} obtenue était d'environ 10^5 -fois plus basse⁹³ que celle rapportée par le fabricant pour des invertébrés (*Daphnia*; fiche des données de sécurité^z). Les résultats obtenus pour les différents biomarqueurs montraient une courbe dose-réponse multiphasique suggérant que la toxicité peut affecter différents processus physiologiques⁹³. Machado *et al.* (2016)⁹³ suggèrent que des résultats similaires pourraient être obtenus pour les autres formes de *Bt*.

Heterocypris bosniaca (Ostracoda : Cyprididae) est un ostracode que l'on trouve couramment dans les petits plans d'eau doux temporaires autour de la Méditerranée²⁹⁶. Des femelles adultes ont été exposées individuellement à différents contaminants, incluant le *Bti*. La formulation VectoBac 12AS a été utilisée à une gamme très large de concentrations, allant jusqu'à 10 000 mg/l (12 000 000 ITU/l, voir annexe 1). La survie et la mobilité d'*H. bosniaca* même à la plus faible concentration testée, 5 mg/l (6 000 ITU/l, voir annexe 1) ont été affectés, avec des effets similaires à ceux observés à des concentrations plus élevées. Des concentrations de 300 mg/l (360 000 ITU/l, voir annexe 1) et plus résultent en 100 % de mortalité après 2 à 5 jours²⁹⁷. Les auteurs²⁹⁷ affirment que des ingrédients autres que le *Bti* de la formulation VectoBac 12AS (voir section 3) pourraient être responsables de la mortalité observée. Morawscik (1983)²¹⁷ n'a pas observé d'impact de la culture de *Bti*, utilisée lors de ses expériences sur les ostracodes. Les ostracodes peuvent compter parmi les organismes dominants de certains écosystèmes aquatiques au Québec, p. ex. à la baie McLaurin à Gatineau²⁸⁷ où l'on fait l'épandage de VectoBac²⁸⁷.

Le *Bti* peut affecter certains nématodes, par exemple Meadows *et al.* (1990)²⁹⁸ mentionnent que la croissance des populations du nématode du vinaigre (*Turbatrix aceti*) est plus impactée par le *Bti* que par le *Btk* ou le *Btm* et l'exposition répétitive au *Bti* à des intervalles de 3 jours peut inhiber leur croissance²⁹⁸.

Enfin, certaines études donnent quelques informations sur d'autres organismes qui ne constituaient pas le sujet principal de ces études. Par exemple, quatre expériences faites dans la rivière de Susquehanna en Pennsylvanie, suite à l'épandage de *Bti* pour le contrôle des mouches noires (VectoBac AS/12AS concentration 13 à 24 min-mg/l), ont montré que la densité de la dérive des macroinvertébrés dans la rivière a été négligeable pour les bivalves, les acariens, les gastropodes, les planaires, les nématodes, les

^z <https://www.valent.com/Data/Labels/DiPel%20ES-SDS-VBC-0037R4.pdf>; consulté 12 août 2019.

oligochètes et les amphipodes²⁶². Ceci suggère que ces organismes ne semblaient pas affectés par une forte dose comme celle utilisée pour le contrôle des simules sur une période de seulement 10 min.

La physe *Physa marmorata* (Gasteropoda), un petit escargot d'eau douce, semble sensible au *Bti* (VectoBac WDG) après 12 jours à une concentration de 0,08 µg/ml, ceci correspond selon les auteurs à la CL₅₀ pour des larves (stade 4) de *Cx. pipiens*, avec une mortalité de 27 % (Mansouri et al. 2013)²⁹⁹. Ils ont aussi observé une augmentation significative de l'enzyme glutathion-S-transférase (GST) après une exposition de 48 h (concentration de 0,08 µg/ml), mais pas après 24 et 72 h²⁹⁹. L'acarien aquatique *Eylais hamata* (Acari, Hydrachnidia) n'était pas affecté par le *Bti*²⁹⁹.

Effets indirects

La littérature n'aborde que rarement les effets indirects sur des insectes aquatiques carnivores, par la réduction de l'abondance de larves de moustiques ou chironomes suite à l'épandage de *Bti*. Tel que mentionné dans la section 6.1, Wipfli et Merrit (1994)²⁶⁶ concluent que la réduction de la densité de mouches noires dans les ruisseaux par le *Bti* affecte les prédateurs indirectement et de manière sélective, dépendamment de l'espèce²⁶⁶. Les prédateurs spécialistes ont été plus affectés que les prédateurs généralistes, car ces derniers ont pu consommer des proies alternatives²⁶⁶. Ainsi, les interactions entre proies et prédateurs, de même que la structure des communautés, peut être perturbée par le Bt, alors que les écosystèmes déjà perturbés sont moins résilients aux nouvelles perturbations introduites par l'application de *Bti* ²⁶⁶.

Par ailleurs, des expériences de laboratoire, qui consistaient à nourrir des larves de la chrysope verte (*Chrysoperla carnea*; Plecoptera), organismes terrestres utilisés en contrôle biologique contre des ravageurs agricoles, avec des larves de la spodoptère littorale (*Spodoptera littoralis*; Lepidoptera), contaminées par de la nourriture contenant des toxines de *Bt* transgénique (Cry1Ab activé et les protoxines de Cry1Ab et Cry2A), résulte en une mortalité significative (26 à 78 %) qui augmente avec le niveau de contamination (Hilbeck et al. 1999²³⁰). Cette étude montre que les toxines de *Bt* peuvent affecter des organismes à travers les réseaux trophiques et que des études de longue durée sur plusieurs niveaux trophiques sont nécessaires²³⁰.

Comme indiqué précédemment, Fang (2010)²⁶⁴ ne fait pas mention dans son article sur les effets de l'élimination des moustiques, d'un impact de l'élimination de la biomasse des espèces (ciblées et non ciblées) sur des organismes aquatiques carnivores, les réseaux trophiques et le fonctionnement de

l'écosystème, car elle²⁶⁴ indique que d'autres organismes moins nocifs pour les humains pourront les remplacer. Or des espèces spécialisées ne s'adaptent pas facilement à une autre proie, et aussi, ces proies alternatives n'ont pas nécessairement le même apport nutritif (voir les sections précédentes et suivantes).

7.2. CONCLUSIONS

Les résultats présentés montrent qu'il n'y a pas de consensus scientifique sur les impacts directs des formulations de *Bti* sur les organismes aquatiques non ciblés, autres que les arthropodes et insectes. Il n'y en a pas non plus consensus sur les effets indirects, comme une diminution des prédateurs, de l'élimination des moustiques, des mouches noires et, éventuellement, d'autres organismes tels les chironomes. De plus, les toxines de *Bt* semblent pouvoir affecter des organismes à travers les réseaux trophiques.

Des études faites sur d'autres organismes aquatiques, majoritairement des crustacés, indiquent que :

- a) Le *Bti* pose probablement un risque pour les cladocères, tels que les daphnies, car le *Btk* peut causer la mortalité et ne présente pas une courbe dose-réponse linéaire ou monotone, mais plutôt en forme d'« U-inversé ». Toutefois, l'impact du *Bti* pourrait être validé par des études sur des espèces locales. De plus, les effets sublétaux et physiologiques devraient être évalués lors des suivis générationnels.
- b) Les ostracodes sont susceptibles d'être affectés par la formulation VectoBac 12AS, indépendamment de la concentration finale de ce composé dans l'eau.

En ce moment, il est difficile de confirmer le risque des formulations à base de *Bti* sur les organismes aquatiques associés aux milieux humides (autres que les insectes et les crustacés mentionnés), car il y a peu d'information dans la littérature. Dans cette optique, il serait pertinent que des études de base soient réalisées à court terme, sur des organismes d'importance écologique tels que des mollusques (incluant les moules qui filtrent leur nourriture dans l'eau et qui sont sévèrement en déclin au niveau mondial³⁰⁰, et dans lesquels on a observé des toxines et des gènes de *Bt* d'origine agricole³⁰¹), des annélides, etc. Ces études devraient porter sur l'effet létal, ainsi que sur les effets sublétaux des formulations de *Bti* utilisées au Québec. De plus, des effets synergiques avec d'autres contaminants doivent être considérés dans les travaux. À long terme, des suivis de populations de l'ensemble des organismes aquatiques dans les zones

d'épandage sont souhaitables. De la même manière, les interactions entre les crustacés et les moustiques face au *Bti* pourraient être explorées.

8. Effets sur les amphibiens

Sur les 21 espèces d'amphibiens présentes au Québec³⁰², deux espèces sont désignées vulnérables, une espèce est menacée et quatre espèces sont susceptibles d'être désignées comme menacées ou vulnérables³⁰³. Les populations d'amphibiens sont en déclin au niveau mondial³⁰⁴. Les principales menaces qui affectent ces organismes sont la perte d'habitats, les maladies^{305,306}, les invasions biologiques³⁰⁷⁻³⁰⁹, les pesticides et les fertilisants³¹⁰. Les milieux aquatiques constituent des habitats pour les amphibiens. Ils sont donc présents aux endroits où l'épandage de *Bti* peut être effectué, en raison de la présence de larves d'insectes piqueurs.

Les amphibiens, particulièrement les têtards et les salamandres aquatiques, étaient considérés comme très sensibles aux pesticides, car ils vivent dans l'eau et respirent par leur peau perméable. Or, dans sa revue de littérature, Gendron (2013)³¹¹ présente des études qui démontrent que les amphibiens ne sont pas nécessairement plus sensibles que d'autres organismes aquatiques. L'exposition aux pesticides peut avoir un impact direct sur la survie et la croissance des amphibiens, en affectant le taux de succès de métamorphose des stades larvaires³¹⁰. De plus, ces produits peuvent avoir des impacts sublétaux, tels qu'une augmentation de risque d'infection par des parasites³¹² et des impacts physiologiques ou comportementaux. Également, les pathogènes, tel que le ranavirus, présent au Québec³¹³, peuvent rendre les amphibiens plus sensibles aux pesticides³¹⁴. Ces impacts peuvent entraîner une augmentation du risque de prédation³¹⁰.

8.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs et indirects

La littérature indique qu'en général, l'exposition au *Bti* (pure ou formulations de l'époque) n'entraîne pas de mortalité chez les larves d'amphibiens (p. ex. Schnetter *et al.* 1981³¹⁵, Morawcsik 1983²¹⁷, Prüfer 1983³¹⁶, Scholten 1991³¹⁷, qui sont cités par Becker et Margalit 1993⁴¹ ainsi que Becker *et al.* 2010⁵ (publications associées au KABS), Boisvert et Boisvert 2000³⁰ qui citent surtout⁴¹). Or, en plus d'un rapport récent sur l'impact du *Bti* sur des larves d'un triton en mésocosmes (voir en bas), nous présentons cinq

publications, utilisant des formulations commerciales de *Bti* et une publication avec des formulations en vente libre, qui rapportent des effets létaux et sublétaux sur des têtards d'anoures.

Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ ont démontré que la toxicité d'*Introbán* (une suspension aqueuse de *Bti* produite par Valent BioSciences Corporation aux États-Unis, et mise sur le marché en Argentine¹³⁷) augmente avec le dosage (0 à 40 mg/l ou 0 à 48 000 ITU/l) pour des stades larvaires de la grenouille sud-américaine commune, *Leptodactylus latrans* (Anura : Leptodactylidae) avec une mortalité de 100 % après 48 h à 40 mg/l et un CL₅₀ de 22,45 mg/l¹³⁷ (26 940 ITU/l, voir annexe 1). De plus, l'exposition des têtards aux doses sublétales provoque une augmentation de l'activité des enzymes de détoxification, la glutathion S-transférase (GST) et d'antioxydation, la catalase (CAT), produit des effets génotoxiques, tels que la formation de micronucléii, et endommage l'épithélium de l'intestin, même à la plus faible concentration (2,5 mg/l¹³⁷ = 3 000 ITU/l, voir annexe 1). Ces résultats montrent que les toxines de *Bti* ou la formulation vendue en Argentine peuvent, en plus d'avoir un effet léthal, avoir un impact subléthal sur des espèces non ciblées, telles que les amphibiens, et compromettre l'intégrité physique ou fonctionnelle de leur génome¹³⁷. Lajmanovich (comm. pers., 11 juillet 2016) mentionne qu'il n'était pas possible de différencier les effets du *Bti* de ceux des adjuvants dans la formulation d'*Introbán* pendant leur étude.

Junges *et al.* (2017)¹⁶³ ont montré des variations importantes au niveau interspécifique et intraspécifique pour le CL₅₀ (toxicité aiguë telle que décrite par USEPA (2002) et American Society for Testing and Materials (2007) dans ¹⁶³) chez les têtards de trois espèces de grenouilles. Celles-ci se retrouvent dans des étangs temporaires dans des zones inondables en Argentine où il n'y a pas encore eu de traitements de contrôle des moustiques. Ces variations interspécifiques sont aussi retrouvées pour la CMEO (concentration minimale causant un effet observable ou LOEC, *lowest-observed-effect concentrations*) et pour la CSEO (concentration sans effet observable ou NOEC, *no-observed-effect concentrations*) 24 et 48 h après l'exposition au *Bti* (concentration de 1,5 à 40 mg/l ou 1 800 à 48 000 ITU/l; *Introbán*, même formulation que l'étude précédente¹³⁷). Des tests de toxicité aiguë montrent que l'*Introbán* est moins toxique que les insecticides chimiques testés (perméthrine et téméphos), mais présente un effet sur les têtards. Les CL₅₀ obtenues pour les trois espèces de grenouilles varient de 10,7 à 20,5 mg/l (12 876 à 24 612 ITU/l, voir annexe 1). Des essais d'activité effectués aux concentrations sublétales (CSEO-24 h) montrent que la formulation de *Bti* (concentration de 3 à 13,99 mg/l ou 3 600 à 16 656 ITU/l) diminue l'activité, ainsi que la distance parcourue, et augmente le temps d'immobilité pour *Rhinella arenarum* (Anura : Bufonidae). Pour une autre espèce du même genre, *R. fernandezae* (Anura : Bufonidae), l'activité et la distance parcourue ont diminué aussi, mais le temps d'immobilité n'était pas influencé. Les têtards

de *Physalaemus albonotatus* (Anura : Leptodactylidae) ont réagi différemment : l'activité et la distance parcourue ont augmenté, mais le temps d'immobilité n'était pas influencé après l'exposition à l'*Introbac*¹⁶³. Les expériences n'ont pas duré assez longtemps pour observer si les têtards exposés à l'*Introbac* ont finalement pu se métamorphoser. Ces résultats montrent que des concentrations CSEO-24 h (concentration de 3 à 13,99 mg/l) de la formulation de *Bti* ne sont pas directement létales pour les têtards, mais qu'elles peuvent entraîner des effets comportementaux¹⁶³. Ces effets peuvent potentiellement affecter la survie des organismes¹⁶³. Les auteurs de l'étude n'ont pas utilisé les mêmes tests physiologiques et les mêmes examens histologiques que Lajmanovich et al. (2015)¹³⁷ de sorte que la comparaison des résultats n'est pas possible. Toutefois, les résultats de ces deux études confirment que la formulation *Introbac* contient un ou des produits qui affectent les têtards¹⁶³.

Allgeier et al. 2018¹⁹⁸ n'ont pas observé de mortalité lors des essais avec différentes formulations de VectoBac^{aa} sur des têtards de la grenouille rousse *Rana temporaria* (Anura : Ranidae). Les concentrations testées (VectoBac WG : concentrations 67,61, 135,21 et 676,06 mg/l ou 3247, 6 494 et 32 470 ITU/l [sable], et sous la forme *ice pellets* 40,56, 81,13 et 405,65 mg/l ou 3 900, 7 800 et 39 000 ITU/l ; et VectoBac 12AS : concentrations 5,41, 10,82 et 54,12 µl/l ou 6 494, 12 988 et 64 940 ITU/l [liquide]) étaient comparables à celles utilisées pour des épandages en Allemagne, ainsi que 2 et 10 fois ces concentrations (voir section 5.2). Les têtards se sont tous métamorphosés en juvéniles viables lors d'expériences de multiples expositions. De plus, il n'y avait pas de différences significatives entre les différentes formulations de *Bti* ni pour le temps de développement jusqu'à la métamorphose, ni pour la taille ou le poids des têtards. Par contre, des effets physiologiques similaires à ceux rapportés par Lajmanovich et al. (2015)¹³⁷ ont été observés. Les concentrations des enzymes glutathion-S-transférase (GST), glutathion réductase (GR) et acétylcholine estérase (AChE, biomarqueur pour des impacts neurotoxiques) ont augmenté de manière significative après l'application de *Bti*¹⁹⁸. Cette augmentation de l'activité enzymatique reflète des réponses de détoxification (GST) et antioxydantes (GR) de même que des changements de l'activité neuronale (AChE). La concentration de GST augmentait après chaque application consécutive de *Bti* à l'intérieur d'une période n'excédant pas 6 jours¹⁹⁸. Une seule exposition au stade GS 25 résulte en une augmentation de GST de 48 % (application sous la forme liquide et sable), de GR de 88 % pour les trois formes et AChE montrait une baisse significative pour la formulation sous forme *ice pellets*.

^{aa} Les différentes formulations de VectoBac sont utilisées au Québec pour le contrôle d'insectes piqueurs sont VectoBac 200G et VectoBac 1200L⁴⁸⁰ qui semblent l'équivalent de VectoBac G¹³⁸ et VectoBac 12AS¹³⁷ respectivement.

Par ailleurs, les concentrations de *Bti* n'étaient pas constantes lors des expériences de multiple exposition, car 3 fois par semaine, la moitié de l'eau dans chaque aquarium était remplacée par de l'eau sans *Bti*, afin d'éliminer des déchets. Ainsi, la concentration était de 100 % pendant à peu près 3 jours après l'application (aux journées 3, 9 et 41), suivie d'une dilution de 50 % tous les deux ou trois jours (c.-à-d. une réduction exponentielle de l'exposition) et ceci jusqu'à la métamorphose 50 à 60 jours plus tard (comm. pers. Carsten Brühl, 12 avril 2019). Par contre, ceci n'influence pas les expériences d'une seule exposition, car les têtards étaient euthanasiés après 48 h.

Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ ont suivi la survie des têtards de la grenouille rousse *Rana temporaria* lors des essais avec la formulation VectoBac WG aux concentrations similaires à celles utilisées pour des épandages en Allemagne¹⁹⁰ ainsi que 10 et 100 fois ces concentrations (1, 10 et 100 mg/l ou 3 000, 30 000 et 300 000 ITU/l) pendant 11 jours¹⁹⁰. M. Becker est remercié pour ses conseils scientifiques à la fin de cette publication¹⁹⁰. Ils ont observé une faible mortalité : 10 % et 12 % dans 1 et 100 mg/l ainsi que 2 % dans le contrôle positif et suggèrent que ceci est acceptable¹⁹⁰. Il n'y avait pas de changements d'eau ou d'élimination des déchets même si les animaux étaient nourris tous les jours, ainsi la concentration de *Bti* était maintenue pendant les expériences. Ces expériences ont été conduites pendant 11 jours seulement au lieu de continuer jusqu'à la métamorphose comme dans les études de Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷, Allgeier *et al.* 2018¹⁹⁸ et Lefebvre-Raine *et al.* (2020; en bas)³¹⁸. Il n'y avait pas de modifications histopathologiques des intestins des têtards¹⁹⁰. Or, ces examens n'ont pas été effectués sur des individus morts pendant les expériences, mais plutôt sur des individus survivants. De plus, ils n'ont pas observé des modifications au niveau des protéines de stress de la famille Hsp70, qui sont des indicateurs de stress en général, ni au niveau des activités de B-estérase (AChE and carboxylesterases)¹⁹⁰. Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ et Allgeier *et al.* 2018¹⁹⁸ n'ont toutefois pas testé Hsp70. Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ ont observé des variations de l'activité de GST et de CAT. Allgeier *et al.* 2018¹⁹⁸ observent des modifications des activités de GST, de GR et de AChE. Il est difficile de comparer les résultats obtenus par les trois équipes, car ils n'ont pas tous analysé les mêmes biomarqueurs enzymatiques. Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ suggèrent que les différences observées pourraient être dues aux températures trop élevées lors des expériences effectuées par Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸ (15 °C et 18 à 24 °C, respectivement). Or, ces températures correspondent à celles observées dans la nature lors de la reproduction de la grenouille rousse (comm. pers. Carsten Brühl 12 juin 2019). Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ ont utilisé seulement VectoBac WG en l'appliquant directement, alors qu'Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸ ont testé la forme liquide (VectoBac AS) et ils ont transformé et appliqué la formulation VectoBac WG sous la forme utilisée par KABS, c.-à-d. *ice pellets* et sable. Toutefois, ces transformations ne devraient pas modifier la toxicité.

Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ suggèrent que les différences observées avec les résultats obtenues par Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ devraient être dues aux adjuvants présents dans la formulation Introban¹⁹⁰. Ils appuient cette hypothèse sur le fait que plus la concentration de *Bti* est élevée comparée aux adjuvants, moins l'impact est important sur des espèces non ciblées (pour des formulations sèches : VectoBac WG : 37,4 % et VectoBac G : 2.8 % ; et des formulations liquides : VectoBac AS : 11.6 % et Introban : 1.2 %^{bb})¹⁹⁰. Même s'il y a très peu de données avec VectoBac WG sur des amphibiens et l'écosystème en général, ils¹⁹⁰ suggèrent qu'il y a une tendance et que les adjuvants causeraient les impacts observés sur les amphibiens et potentiellement sur d'autres organismes non ciblés tels que les chironomes¹⁹⁰.

Par ailleurs, ni Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸, ni Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ mentionnent les résultats obtenus par Junges *et al.* (2017)¹⁶³ qui ont observé des changements comportementaux chez les têtards de trois espèces (temps d'immobilité et distance parcourue).

Lefebvre-Raine *et al.* (2020)³¹⁸ ont évalué la toxicité aiguë (48 h) et chronique (jusqu'à la métamorphose) des formulations de *Bti* sur les têtards du crapaud d'Amérique (*Anaxyrus americanus*; Anura : Bufonidae) et la grenouille des bois (*Lithobates sylvaticus*; Anura : Ranidae) en les exposants à la concentration minimale, 2 fois minimale et maximale recommandées pour l'épandage, ainsi que 2 et 10 fois cette concentration maximale recommandées de VectoBac 200G (2,5 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 20 mg/l et 100 mg/l, qui correspond à 500 à 20000 ITU/l) et VectoBac 1200L (0,25 µl/l, 0,5 µl/l, 1 µl/l, 2,5 µl/l et 10 µl/l, qui correspond à 300 à 12000 ITU/l). Les résultats montrent que les deux espèces d'amphibiens ont répondu physiologiquement à la présence du biopesticide à des concentrations recommandées, puisque certains effets statistiquement significatifs ont été mesurés, incluant la mortalité, les indices morphologiques, le temps de métamorphose, le changement du microbiote intestinal ainsi que l'expression de gènes impliqués dans la détoxification, le stress oxydant et la réponse des hormones thyroïdiennes³¹⁸. Par contre, aucune tendance en fonction de la concentration des traitements de *Bti* n'a été mise en évidence³¹⁸. Pour la formulation liquide de *Bti* (VectoBac 1200L), plus d'effets ont été observés, et ce, à concentration moindre que la formulation solide (VectoBac 200G), ce qui suggère une toxicité accrue des agents ajoutés à la formulation liquide³¹⁸. Les effets physiologiques observés ainsi que le changement du microbiote intestinal affectent potentiellement les stades adultes de ces deux espèces. De plus, il est fort probable que le microbiote de la peau soit aussi modifié, ce qui pourrait affecter la

^{bb} Les puissances des trois formulations liquides de *Bti* produit par Valent Biosciences (VectoBac AS, VectoBac 1200L et Introban) sont 1 200 ITU/mg (Tableau I). Ces trois produits sont probablement obtenus à partir de la même poudre primaire ou technique qui a une puissance 5 000 ITU/mg, ainsi il est étonnant qu'Introban contienne plus d'adjuvants que les deux autres produits.

résistance des anoues, incluant la grenouille des bois³¹⁹, au champignon pathogène *Batrachochytrium dendrobatidis*^{319,320}. Ce pathogène est présent au Québec³²¹. Il semble qu'il n'y pas encore eu des études sur les modifications du microbiote de la peau au stade larvaire et les implications pour les adultes. Des études supplémentaires sont souhaitables afin de s'assurer que les formulations utilisées pour l'épandage du biopesticide *Bti* n'ont aucun effet négatif sur la santé des populations d'amphibiens du Québec³¹⁸.

L'application de *Mosquito Dunks*, produit contenant du *Bti* (en vente libre), en mésocosmes au Missouri (un anneau par mésocosme avec 800 l d'eau : 1,59 mg *Bti*/l ou 111 156 ITU/l, voir annexe 1), a résulté en une augmentation significative de près de 80 % de la mortalité des stades larvaires de la rainette versicolore *Hyla versicolor* (Anura : Hylidae) en présence des prédateurs (larves de libellules; Pauley *et al.* 2015³²²). Par contre, un autre produit testé, également à base de *Bti*, le *Mosquito Bits*, aussi en vente libre (une cuillère à thé par mésocosme : 1,59 mg *Bti*/l ou 111 156 ITU/l), a réduit la survie des têtards, mais les différences entre les groupes témoin et exposé n'étaient pas statistiquement significative³²². Cette étude n'a pas permis d'identifier les mécanismes responsables des mortalités observées³²². Il faut noter que *H. versicolor* est une espèce présente au Québec.

La publication de Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ a été critiquée par l'industrie qui faisait valoir que la formulation *Introbac* est seulement utilisée dans quelques pays en Amérique du Sud, et que les concentrations de *Bti* utilisées lors des expériences seraient plus élevées que celles utilisées lors des épandages de VectoBac^{316,323,324}. Par contre, ni Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸, ni Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ critiquent les concentrations utilisées par Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷. Or, quatre des publications précédemment citées^{137,163,198,318} montrent que les différentes formulations de *Bti* testées affectent les larves de grenouilles de manière physiologique même à la plus faible concentration testée. Aucune étude n'a jusqu'à maintenant évalué l'effet de l'exposition au *Bti* durant le stade larvaire des amphibiens sur leur survie après la métamorphose, leur capacité à se reproduire une fois adulte et la viabilité de leur progéniture. Aussi, il n'y a pas de preuves que l'augmentation des concentrations des enzymes GST, CAT, GR et AChE cause des séquelles épigénétiques, qui impactent les générations futures. Des effets toxiques transgénérationnels ont déjà été observés pour plusieurs pesticides sur d'autres organismes. Par exemple, l'herbicide atrazine, le fongicide vinclozolin, les insecticides DDT, perméthrine et méthoxychlor, ont tous des effets toxiques qui peuvent se manifester sur plusieurs générations³²⁵.

Des têtards de trois espèces d'anoues répandues au Québec, la grenouille léopard *Rana pipiens* (Anura : Ranidae), le crapaud d'Amérique *Bufo americanus* (Anura : Bufonidae) et la rainette crucifère *Hyla crucifer* (Anura : Hylidae), ont été nourris avec des larves de 3^e et 4^e stade des moustiques *Aedes astropalpus*, *Ae.*

triseriatus et *Cx. restuens*, tués par du *Bti* (1.5 g/l VectoBac G, mais sans détails sur la concentration de *Bti* dans ces larves)³²⁶. Le développement et la métamorphose des têtards des trois espèces n'ont pas été affectés par le *Bti* contenu dans les larves de moustiques morts³²⁶.

Des suivis d'abondance et des malformations de grenouilles au Minnesota en 1999, suite à cinq ou six épandages de *Bti* par année (5-8 lb par acre; il n'a pas été possible de calculer les équivalents de ces dosages de *Bti* en ITU, car la formulation utilisée n'est pas spécifiée, voir annexe 1), n'ont pas démontré une corrélation significative entre l'épandage de *Bti* et l'occurrence de malformations, ni la présence ou l'absence de grenouilles (Johnson *et al.* 2001)³²⁷. Par contre, les auteurs indiquent qu'il faut être prudent avec l'interprétation de ces résultats, car le nombre d'observations était peu élevé³²⁷. Selon Tiwari *et al.* (2011)³²⁸ l'utilisation de VectoBac WDG (dosage 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, et 1g/m²) pour le contrôle d'*Anopheles ulicifacies* (vecteur de malaria) dans des carrières de pierre rurales en Inde n'affecte pas les grenouilles ni leurs têtards. Or, lors de cette étude³²⁸, il n'y avait pas de protocole pour suivre les impacts sur des espèces non ciblées.

L'analyse des réseaux trophiques en mésocosmes avec des isotopes stables ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) avec des larves du triton palmé (*Lissotriton helveticus*) montre qu'ils se nourrissent en grande partie de chironomidés (>56 %) et de zooplancton (>25%; Brühl *et al.* 2019¹²⁶ et Allgeier *et al.* 2019³²⁹). Les stades adultes des tritons en mésocosmes, avec l'application de *Bti* (différentes formes de VectoBac WG à des concentrations telles qu'utilisées en Allemagne), étaient de plus petite taille et de plus petit poids (non significatif) que ceux dans des conditions 'contrôle', car l'abondance des larves des chironomidés y était réduite de 53 à 65 %^{329,126}. La taille des têtards/grenouilles à la métamorphose est déterminée par la quantité de nourriture disponible surtout lors des derniers stades de développement larvaires³³⁰. Cette observation est probablement aussi valide pour les autres amphibiens^{329,126}. Les derniers stades de tritons se nourrissent surtout des insectes benthiques³³¹. Ainsi, une réduction de proies disponibles (p. ex. des larves de moustiques, chironomidés ou simules) peut résulter en une taille plus petite si aucune autre source de nourriture ne peut combler ce déficit. Ceci augmente aussi le risque de prédation par des poissons, des libellules, etc., et réduit ainsi le potentiel de survie des amphibiens juvéniles^{332,333}. En mésocosmes avec l'application de *Bti* et en présence des larves de libellule (*Aeshna cyanea*), c.-à-d. un compétiteur pour la nourriture, 27 % des larves du triton ne se sont pas rendus à la métamorphose comparativement aux mésocosmes sans *Bti*^{329,126}. Ceci ressemble aux observations réalisées dans le cadre de l'étude précédemment mentionnée portant sur des têtards de la rainette versicolore *Hyla versicolor*³²². Les amphibiens peuvent développer un comportement anti-prédateur en diminuant leur activité, ceci réduit

le risque de détection et réduit aussi la durée et intensité des périodes d'alimentation^{334,335}. Des effets sublétaux causés par des pesticides peuvent empêcher le développement de ce comportement anti-prédateur et ainsi augmenter le potentiel de prédation (Reeves *et al.* 2011³³⁶). Junges *et al.* (2017)¹⁶³ ont démontré que l'exposition des têtards à la formulation de *Bti* "Introban" change le comportement et l'activité des têtards. La réduction par la prédation du nombre d'amphibiens qui quittent le milieu aquatique après métamorphose n'impacte pas seulement la taille de la population, mais aussi le fonctionnement de l'écosystème, car le transfert de biomasse et énergie vers le milieu terrestre est réduit (Gibbons *et al.* 2006³³⁷).

Dans sa "*Mise à jour sur l'utilisation d'un larvicide (Bti) dans la lutte contre les insectes piqueurs*" Moreau (2020³³⁸; employé de GDG Environnement) indique que les résultats obtenus par Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸ et Schweizer *et al.* (2019)¹⁹⁰ démentent les observations de Lajmanovich *et al.* (2015)¹³⁷ car ils n'ont enregistré aucune mortalité et aucun impact sur le développement. Or, c'est vrai qu'Allgeier *et al.* (2018)¹⁹⁸ n'ont pas observé de mortalité, par contre ils ont observé des impacts physiologiques relativement importants c.-à-d. une augmentation de l'activité enzymatique de détoxification et antioxydante de même que des changements de l'activité neuronale. Ce sont des effets toxiques qui peuvent se manifester sur plusieurs générations³²⁵ et ainsi impacter l'abondance de la population à long terme, ceci est l'équivalent de mortalité.

Tel que mentionné précédemment, Fang (2010)²⁶⁴ ne mentionne pas le potentiel d'effet de l'élimination de la biomasse des moustiques, qui sont considérés un vecteur de maladies dans son article. De plus, elle n'évoque pas les effets possibles sur des espèces non ciblées, qui peuvent à leur tour affecter les carnivores, les réseaux trophiques et les écosystèmes, car elle²⁶⁴ indique que d'autres organismes moins nocifs pour les humains pourront les remplacer.

8.2. CONCLUSIONS

Les observations aux États-Unis, en Argentine, en Allemagne et au Québec montrent que les formulations de *Bti* (Mosquito Dunks, Introban et les différentes formes de VectoBac), aux concentrations utilisées lors des épandages, peuvent avoir un impact physiologique ou comportemental chez les huit espèces de têtards étudiées^{137,163,198,322,318}. Des effets génotoxiques, tels que la formation de micronucleii, par exemple, ont également été observés lors de l'étude en Argentine¹³⁷. Ces huit espèces se trouvent dans

trois familles, *Leptodactylidae* et *Bufonidae*, qui appartiennent à la superfamille *Hylodea*, ainsi que *Ranidae*, appartenant à la superfamille *Raniidae*. Les différentes espèces d'anoures présentes au Québec appartiennent aussi à ces deux superfamilles et plus spécifiquement, aux familles des bufonidés, des hylidés et des ranidés³⁰². Ainsi, il y a une possibilité que ces espèces soient aussi sensibles aux différentes formulations de VectoBac. De plus, la présence des prédateurs dans les milieux traités au *Bti*, pourrait compromettre la survie des larves de triton par la réduction de l'abondance de nourriture.

Pour ces raisons, et en appliquant le principe de précaution, l'épandage de *Bti* devrait être évité ou minimisé en présence d'amphibiens, notamment s'il y a présence d'espèces menacées, vulnérables ou susceptibles d'être ainsi désignées. Dans ces circonstances, l'épandage pourrait éventuellement avoir lieu quand les têtards sont métamorphosés et que les autres amphibiens semi-aquatiques, tels que la salamandre pourpre (*Gyrinophilus porphyriticus porphyriticus*) et la salamandre à quatre orteils (*Hemidactylium scutatum*) ont migré vers des habitats terrestres.

La réduction de nourriture présente dans l'écosystème suite à l'épandage de *Bti* affecte le potentiel de métamorphose des larves du triton palmé³²⁹ et le potentiel de survie de la rainette versicolor³²². Il est possible que les stades aquatiques des amphibiens au Québec soient aussi affectés de manière indirecte par une réduction de la présence de nourriture présente dans l'écosystème suite à l'épandage de *Bti*, si elles ne sont pas capables à s'acclimater à cette perturbation de l'intégrité de l'écosystème.

9. Poissons

La littérature portant sur l'effet des formulations du *Bti* sur les poissons est plutôt maigre. Selon les études publiées, l'épandage de *Bti* ne semble pas affecter directement les poissons^{3,5,30,217,339}. La section suivante présente l'information disponible dans la littérature concernant les effets directs du *Bti* ainsi que les impacts indirects sur les poissons.

9.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs

Des tests de toxicité avec VectoBac sur le choquemort, *Fundulus heteroclitus* (Cyprinodontiformes : Fundulidae), un poisson des eaux saumâtres, ont été faits en Caroline du Sud, aux États-Unis (Lee et Scott,

1989)¹⁴². Cette étude, qui a eu l'appui financier et technique du fabricant de VectoBac, a montré que le CL_{50} pour le choquemort après 96 h d'exposition à VectoBac (sans spécification de la formulation) était de 1 176 000 ITU/l (980 mg/l)¹⁴². Le CSEO était 26 832 ITU/l (22,36 mg/l)¹⁴². Ce dernier équivaut à 13 fois la concentration maximale des formulations de VectoBac utilisées au Québec pouvant se retrouver dans une profondeur d'eau de 10 cm (voir annexe 1). De plus, bien que le VectoBac n'affectait pas le choquemort, cette étude a montré que le fait d'ajouter cet insecticide biologique à l'insecticide chimique Fenoxycarb (insecticide carbamate), augmente la toxicité du dernier pour le choquemort¹⁴². Selon les auteurs¹⁴², l'augmentation de la toxicité du Fenoxycarb a probablement été le résultat d'une augmentation de l'ingestion de ces deux insecticides et ils recommandent d'explorer les relations de toxicité entre ces insecticides dans les études futures. Dans la publication¹⁴², on ne mentionne pas la possibilité d'autres interactions chimiques entre les deux formulations, qui auraient pu expliquer aussi l'augmentation de la toxicité de Fenoxycarb.

Brühl *et al.* (2020)⁴⁰ mentionnent qu'il est étonnant qu'il n'y a pas eu d'études sur l'impact des épandages de *Bti* sur les réseaux trophiques des poissons, surtout car une grande partie des jeunes stades mangent des larves de moustiques, chironomes et simuliés. En Australie, *Melanotaenia duboulayi* (Atheriniformes : Melanotaeniidae) est utilisé pour le contrôle biologique de moustiques (Hurst *et al.* 2007³³⁹). L'exposition pendant 24 h à VectoBac AS (*Bti*) et VectoLex WG (*Ls*), tous les deux à des concentrations 10x les concentrations habituelles lors des épandages n'affectent pas la capacité natatoire de ce poisson³³⁹. Lors de ces expériences, il n'y a pas eu d'autres analyses³³⁹. Le Mosquito Dunks et le Mosquito Bits, deux formulations de *Bti* en vente libre, n'ont pas eu d'effet direct sur de jeunes saumons cohos *Oncorhynchus kisutch* (Salmoniformes : Salmonidae) à Seattle³⁴⁰, mais sans précisions sur les concentrations. De la même manière, Wipfli *et al.* (1994)¹³⁶ n'ont pas observé d'effets du Teknar HP-D (Valent Biosciences) à des concentrations allant de 0 à 10 000 mg/l pendant 24 ou 48 h (stérilisé en autoclave ainsi que non stérilisé), sur de jeunes stades d'ombles de fontaine *Salvelinus fontinalis* (Salmoniformes : Salmonidae), sur des truites arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes : Salmonidae) et sur des truites brunes *Salmo trutta* (Salmoniformes : Salmonidae), sauf quand les concentrations dépassaient largement les dosages recommandés. Les auteurs mentionnent que la mortalité observée était reliée aux composantes de la formulation, sans préciser lesquels, et non pas aux toxines de *Bti*¹³⁶. De plus, de jeunes truites brunes nourries pendant cinq jours avec des larves de simuliés mortes suite à l'exposition au *Bti* (sans préciser la concentration de *Bti* dans ces larves) n'ont pas été affectées¹³⁶. Fortin *et al.* (1986)³⁴¹ ont aussi exposé les alevins de l'omble de fontaine (*S. fontinalis*) à des concentrations de 4500 et 6000 mg/l de Teknar pendant 45 min, reflétant les conditions lors du contrôle des mouches noires (où on maintient ces concentrations

pendant 15 min²⁴³), résultant en des mortalités de 20 % et 86 %, respectivement. Ces mortalités étaient reliées à la présence de xylène dans cette formulation de *Bti*³⁴¹.

Quelques études récentes ont été faites sur des poissons afin d'établir la génotoxicité du *Bt* sur ce groupe. Une des méthodes couramment utilisées pour déterminer la génotoxicité est le test de formation de micronucléii³⁴². Des différentes endotoxines de *Bt* testés, l'exposition à Cry 1Aa augmentait le nombre de micronucléii dans les érythrocytes des poissons-zèbres adultes *Danio rerio* (Cypriniformes : Cyprinidae) ainsi que la combinaison de cette toxine avec d'autres endotoxines³⁴³. Des expériences avec des stades embryonnaires et larvaires montraient la toxicité de toutes les endotoxines de *Bt* et des retards de développement³⁴³. Chaque toxine exprimait la toxicité de manière différente³⁴³.

Grisolia *et al.* (2009)³⁴⁴ n'ont pas observé d'impacts visibles de *Bti* et *Btk* à des concentrations 5×10^6 spores/ml chez des poissons-zèbres adultes ou des tilapias (*Oreochromis niloticus*; Cichliformes : Cichlidae) d'une longueur de 7 à 10 cm. L'injection intra-abdominale de *Bti* et *Btk* (0,2 ml d'une concentration de 1×10^8 spores/ml) a augmenté de manière significative le nombre d'érythrocytes nécrosés chez des tilapias d'une longueur de 7 à 10 cm³⁴⁴. Or, ces tests sont très intrusifs et peu représentatifs du mode d'exposition naturel. L'exposition des tilapias à des concentrations $3,3 \times 10^6$, $3,3 \times 10^7$ et $3,3 \times 10^8$ CFU/l de trois différentes souches de *Bt* (spores et cristaux) ne résultait pas en des signes de toxicité comportementale, ni en cytotoxicité ou génotoxicité³⁴⁵.

Effets indirects

Selon la classification des niveaux trophiques des poissons du Saint-Laurent par La Violette *et al.* (2003)³⁴⁶, 52 % de ces poissons sont des insectivores, qui s'alimentent spécialement d'insectes (benthiques ou pélagiques), 28 % sont des piscivores, qui se nourrissent principalement, à l'âge adulte, de poissons, d'autres vertébrés (p. ex. grenouilles) ou de gros invertébrés (e.g. écrevisses), et 12 % sont des omnivores, qui se nourrissent à la fois de matières végétales et animales en proportion importantes (≥ 25 % de chacun en termes de volume) ainsi que de détritus³⁴⁶. Ainsi, la réduction de l'abondance des insectes aquatiques tels que les larves de moustiques, de similies ou de chironomes suite à l'épandage de *Bti* pourrait affecter l'abondance de nourriture pour les poissons insectivores et par la suite, à travers les réseaux trophiques, affecter les populations des poissons exploités et autres organismes piscivores.

Quant aux effets indirects du *Bti* sur les poissons, une seule publication a été trouvée. Dans la rivière Susquehanna, en Pennsylvanie, les larves de similies sont une des principales sources de nourriture pour des populations de petits poissons (toutes les espèces de petits poissons confondues)²⁶². Lors de

l'application de *Bti* (seulement une fois; VectoBac AS/12AS, 13 à 24 min-mg/l = 15 600 à 28 800 min-ITU/l) pour le contrôle des similies, la dérive des larves de similies dans la rivière augmentait de manière significative moins de 30 minutes après l'application de ce produit, atteignant un maximum après deux à trois heures pour rester élevée pendant plusieurs heures. Jackson *et al.* (2002)²⁶² ne précisent pas si ces larves étaient mortes ou si elles étaient vivantes (phénomène d'évitement). Peu importe le mécanisme, le résultat de la réduction de la population locale de similies est la même : une réduction en source de nourriture potentielle pour les poissons. Le déclin des larves de similies n'avait pas d'impact sur la condition des poissons, ni sur leur croissance à court terme, probablement parce que les proies alternatives, telles que les éphémères et les trichoptères, étaient abondantes. Alors, les conditions trophiques pour les poissons ne semblaient pas être affectées par l'élimination des similies dans l'étude²⁶². Par ailleurs, Back *et al.* (1985)²⁴³ mentionnent que 78,5 % des larves des mouches noires étaient détachées et parties à la dérive 24 h après l'application et 17 % des larves étaient mortes sans se détacher. Les quelques larves encore vivantes et attachées étaient moribondes²⁴³. Ils précisent qu'une mortalité finale pourrait être atteinte en un peu plus de 24 h²⁴³, et ils²⁴³ considèrent leur détachement comme équivalent à une mortalité.

Lors de l'étude de Jackson *et al.* (2002)²⁶², il y a eu seulement une application de *Bti*. Or, selon les demandes d'autorisations présentées au MELCC et dans le cadre desquelles le MFFP est appelé à collaborer, les applications de *Bti* pour le contrôle de mouches noires au Québec peuvent être répétées durant toute la période d'émergence. Cette période s'étale du printemps à l'automne, dans toutes les branches des cours d'eau (intermittent et permanent) des bassins versants de la région couverte par l'autorisation. La rivière Shawinigan a été traitée à dix reprises durant la saison 2017 et les traitements ont généralement été espacés de 14 jours (GDG Environnement 2017¹⁵⁷). Ainsi, dans ces bassins versants, il y a potentiellement une réduction soutenue des populations des larves de chironomidés et de similies pour toute cette période. De plus, le *Bti* peut être transporté avec le courant jusqu'à l'embouchure des cours d'eau, par exemple au lac Saint-Pierre, et éventuellement s'y accumuler dans les sédiments. Il n'y a présentement pas d'études qui ont abordé les applications répétées et le comportement du *Bti* dans le bassin versant pendant une saison d'épandage complète, ni sur les populations de similies qui s'y trouvent, ni sur les populations de poissons. Ainsi, la réduction des populations des larves de similies et éventuellement de chironomidés et moustiques et, suite à l'épandage de *Bti* pour contrôler les insectes piqueurs, pourrait affecter la densité de proies disponibles pour des espèces aquatiques insectivores benthiques dans tout le bassin versant. Parmi les espèces menacées ou vulnérables au Québec, il y a le dard du sable (*Ammocrypta pellucida*; Perciformes : Percidae) qui s'alimente principalement de larves

de chironomidés et de larves de simuliés³⁴⁷ et que l'on retrouve entre autres aux embouchures des cours d'eau traitées et au lac Saint-Pierre.

9.2. CONCLUSIONS

Les résultats présentés montrent que l'exposition des poissons aux concentrations habituelles pour l'épandage de *Bti* n'affecte pas directement les poissons. Par contre au Québec, les poissons pourraient être affectés par le *Bti* à deux façons :

- Le contrôle des larves de moustiques et de mouches noires dans des cours d'eau et accompagné potentiellement d'une réduction de l'abondance des larves de chironomidés, peut diminuer les densités de proies disponibles pour les poissons insectivores et ainsi affecter la communauté des poissons;
- Lors de l'épandage de *Bti* pendant les crues printanières, particulièrement les différentes espèces de poissons qui frayent dans les plaines inondables peuvent particulièrement être affectées par la réduction des proies causées par l'épandage de *Bti* 'frais' ainsi que par la persistance suite à l'épandage de *Bti* la saison précédente. Ce dernier pourrait aussi réduire la densité des proies disponibles lors d'une période de crue subséquente suite à des précipitations importantes.

Il n'y a présentement pas de données sur l'effet de l'élimination des larves de moustiques, de simuliés et de chironomes sur l'abondance ou la disponibilité en nourriture pour les poissons au Québec. De plus, il existe peu d'études sur les effets directs et indirects du *Bti* sur les poissons.

Lors de la crue printanière, plusieurs espèces (perchaude, grand brochet, etc.) frayent dans les plaines inondables des cours d'eau et les larves se développent durant cette période. Ainsi, les jeunes stades de poissons, qui sont plus sensibles aux pesticides, sont exposés lors des épandages de *Bti* dans les plaines inondables. De plus, les spores et cellules végétales peuvent persister, se recycler et produire de nouvelles toxines d'une année à l'autre. Ces jeunes poissons peuvent conséquemment être exposés au *Bti* et aux autres contaminants présents dans les cours d'eau.

De plus, il est suggéré d'identifier les espèces de poissons (ombre de vase (*Umbra limi*; Umbridae : Esociformes), etc.), qui peuvent être présentes dans les milieux humides où les épandages ont lieu au Québec. Il serait pertinent de réaliser des études en laboratoire sur les effets létaux et sublétaux (reproduction, comportement, génotoxicité) des formulations du *Bti*, particulièrement sur les jeunes stades (embryons, larves et alevins) de poissons présents dans les milieux humides et les zones

inondables. La toxicité additive et la synergie du *Bti* avec d'autres composés toxiques, qui peuvent se retrouver dans les sites d'épandages, pourraient aussi être examinées.

Quant aux impacts indirects du *Bti* sur les populations des poissons dans les cours d'eau, il serait pertinent d'évaluer l'importance des diptères dans la diète des poissons au Québec et d'évaluer l'impact de la réduction des disponibilités des proies suite aux épandages, spécialement les EMV tels que le dard du sable (*A. pellucida*). Une étude pourrait examiner la relation entre l'abondance des poissons et les épandages à partir des données historiques.

10. Effet sur les oiseaux insectivores

Les populations d'oiseaux nord-américains qui se nourrissent d'insectes aériens connaissent un déclin à grande échelle³⁴⁸. Une analyse des tendances provenant des données de 1966 à 2006 du North American Breeding Bird Survey (BBS) en Amérique du Nord, indique que les déclins dans ce groupe sont en général, significativement plus importants que ceux observés chez les passereaux. De plus, de tels déclins sont plus remarqués dans le nord-est de l'Amérique du Nord, notamment sur les espèces qui migrent sur de grandes distances lesquelles sont les plus vulnérables^{349,348}. Les déclins sont devenus évidents au milieu des années 1980 et ils seraient reliés aux changements dans les populations d'insectes volants³⁴⁸. Une autre publication, se basant sur des données du BBS et couvrant une période plus longue, de 1966 à 2013, montre que 74 % des populations d'oiseaux nord-américains associées au paysage agricole sont en déclin³⁵⁰ et le plus fort déclin a été observé chez les oiseaux qui se nourrissent d'insectes aériens (39 %) ³⁵⁰. Le dernier rapport sur l'état des populations d'oiseaux du Canada (2019) mentionne un déclin de 59 % pour les insectivores aériens entre 1970 et 2016³⁵¹. Récemment, Rosenberg *et al.* (2019) ont évalué un déclin de 73 % des insectivores aériens en Amérique du Nord de 1970 à 2017³⁵². Les populations d'oiseaux insectivores au Québec (c'est-à-dire celles du sud du Bouclier canadien et des Maritimes combinées) ont connu une diminution de presque 70 %³⁵³. Parmi ces oiseaux, les populations de martinets ramoneurs, d'hirondelles noires et d'hirondelles de rivage (régions des Grands Lacs inférieurs et du fleuve Saint-Laurent) ont toutes diminuées d'environ 95 % depuis 1970³⁵³. L'agriculture est un facteur majeur du déclin des oiseaux, principalement à cause de la perte des habitats et de l'exposition aux pesticides³⁵⁰, ainsi que d'autres modifications anthropiques, tel que les changements de l'utilisation du sol et du climat³⁵⁴. De plus, les impacts indirects, par exemple la diminution de la disponibilité de proies, peuvent réduire le taux de reproduction ou la survie des jeunes oiseaux ou des adultes³⁵⁰. De telles observations sont

probablement aussi valables pour des zones périurbaines où l'on fait l'épandage de *Bti* souvent dans les derniers milieux humides encore présents dans ces zones. Un point important, quand il s'agit des changements graduels d'abondance d'espèces ou des modifications dans l'écosystème sur de longues périodes, est qu'il y a un potentiel d'occasionner le syndrome de la référence glissante ("shifting baseline syndrome")^{284,285} présenté dans la section 6. C'est-à-dire que chaque génération [population en général ou de biologiste] a tendance de considérer comme le point de référence initial d'un écosystème celui qu'il a connu depuis sa naissance ou depuis le début de sa carrière^{284,285}.

Par ailleurs, tel que mentionné dans la section 1, les oiseaux font partie des organismes hôte, avec les mammifères qui procurent l'apport sanguin nécessaire au le développement des œufs des moustiques et simuliés^{5,11}. Plusieurs espèces peuvent être affectées par le virus du Nil occidental, par exemple les corvidés, et les populations de certaines espèces en Amérique du Nord n'ont pas encore récupéré de l'impact de la mortalité causée par cette maladie³⁵⁵. Aussi, certaines espèces, telles que le Merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), peuvent avoir une virémie assez élevée pour infecter des moustiques lors de leur apport sanguin³⁵⁶ et, ainsi, éventuellement affecter l'épidémiologie humaine^{357,358}.

10.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Au Québec, les populations d'oiseaux insectivores aériens sont également toutes en déclin³⁵⁹. Dans la province, on retrouve ca. 18 espèces d'oiseaux se nourrissant des insectes en vol (Tableau III), dont quatre espèces susceptibles d'être désignées, menacées ou vulnérables selon la Loi sur les espèces menacées ou vulnérables du Québec (RLRQ, chapitre E-12.01)³⁰³, 7 espèces sont désignées à l'Annexe 1 de la Loi sur des espèces en péril (L.C. 2002, ch. 29) du Canada³⁶⁰ et une espèce est classée candidates, préoccupantes ou menacées par le COSEPAQ³⁶¹. Il n'y a présentement pas d'études qui permettent d'identifier les causes détaillées du déclin de ces populations.

Tableau III. Oiseaux insectivores aériens^{cc} avec leur statut : les espèces susceptibles d'être désignées (*) menacées ou vulnérables selon de la Loi sur les espèces menacées ou vulnérables du Québec³⁰³, ainsi qu'inscrit à l'Annexe 1 de la Loi sur les espèces en péril du Canada³⁶⁰ (#) et les espèces qui sont classées candidates par le COSEPAQ³⁶¹ (¥; statut août 2019).

Espèce	Statut			Espèce	Statut		
Engoulevent d'Amérique	*	#		Moucherolle à ventre jaune			
Engoulevent bois-pourri	*	#		Tyrann huppé			
Martinet ramoneur	*	#		Tyrann tritri			
Pioui de l'Est		#		Hirondelle rustique		#	
Moucherolle à côtés olive	*	#		Hirondelle de rivage		#	
Moucherolle des aulnes				Hirondelle à ailes hérissées			
Moucherolle des saules				Hirondelle à front blanc			
Moucherolle phébi				Hirondelle bicolore			
Moucherolle tchébec			¥	Hirondelle noire			

Effets directs

Quant au *Bti*, il ne semble pas affecter directement les oiseaux^{5,30}. Toutefois, il n'y a pas d'études récentes sur ce sujet et différentes toxines de *Bt*, incluant Cyt1A de *Bti*, sous forme dissoute, peuvent avoir des effets cytologiques sur des cellules de certains vertébrés (voir section 1.1). De plus, de nouveaux groupes des toxines Cry, qui ne sont pas toxiques pour les insectes sont présentement testés pour leur potentiel des traitements en oncologie^{35,36}, reflétant un potentiel toxique. Même si elles n'affectent pas des cellules saines (comm. pers. J.-L. Schwartz, 16 mai 2019), il y a une possibilité de transfert à travers les réseaux trophiques. Comme effet direct des activités d'épandages, il pourrait y avoir des dérangements pendant les épandages tant pour des oiseaux insectivores aériens que pour d'autres espèces sensibles (ex : sauvagine), qui fréquentent les milieux humides (p. ex. lors des passages des aéronefs ou des personnes)¹⁷⁵.

Effets indirects

Møller (2019)²⁷⁸ a observé un déclin des insectes aériens de 80 % entre 1997 et 2017 au Danemark et simultanément il a observé un déclin significatif de l'abondance de trois espèces d'hirondelles pendant la période de reproduction.

Becker *et al.* (2010)⁵ mentionnent que les oiseaux ne sont pas des prédateurs importants des moustiques pour deux raisons. D'abord, parce que les heures d'activité des moustiques adultes, au coucher et au lever

^{cc} Liste d'oiseaux insectivores aériens non exhaustive.

du soleil, ne coïncident pas aux heures d'activité des oiseaux pendant la journée⁵. Au contraire, ce sont des périodes d'alimentation importantes, particulièrement le matin, pour les oiseaux insectivores. La présence des moustiques est irrégulière au courant de l'été, où l'abondance est maximale lors des crues printanières et elle peut augmenter après les inondations suite à des précipitations importantes⁵. Ainsi, les moustiques ne sont pas une source de nourriture stable pendant la saison où les inondations sont rares⁵. Par contre, les auteurs⁵ ne mentionnent pas que les espèces opportunistes profitent de l'abondance temporaire de ces insectes émergents. De plus, les moustiques et les chironomes peuvent être des proies importantes dans le réseau trophique en nourrissant des prédateurs, qui sont par la suite mangés par les oiseaux, surtout lors de la période des crues printanières (voir en bas).

Selon Allgeier et al. (2019)¹⁹⁶, la réduction des populations de chironomidés combinée à la réduction des moustiques pourrait résulter en un effet négatif indirect pour les oiseaux, les chiroptères et pour d'autres organismes qui se nourrissent de ces insectes¹⁹⁶. En effet, Hallmann et al. (2014)³⁶² montrent que le déclin des populations d'oiseaux insectivores aux Pays-Bas pendant la période de 2003 à 2010 résulte d'un impact indirect de l'utilisation de pesticides (néonicotinoïdes) pour le contrôle des ravageurs agricoles. L'application de ces pesticides résulte en une diminution des populations d'insectes (notamment Diptera, Ephemeroptera, Odonata, Coleoptera et Hemiptera)³⁶². Ceci diminue la nourriture disponible au printemps pour les oiseaux insectivores, c.-à-d. lors de la période de reproduction, affectant ainsi les populations de ces oiseaux³⁶². Les auteurs³⁶² ajoutent que les résultats sont des corrélations et qu'il y a une possibilité qu'il y ait d'autres facteurs, tels que l'accumulation des pesticides à travers les réseaux trophiques, qui peuvent aussi contribuer au déclin de ces populations. Depuis, des observations similaires d'impact des néonicotinoïdes sur le fonctionnement des réseaux trophiques et de l'écosystème aquatique ont été confirmées³⁶³. Yamamuro et al. (2019)¹⁵¹ montrent que les chironomidés *Chironomus plumosus* et *Tanytarsus* spp. ainsi que d'autres organismes aquatiques (benthiques et pélagiques) ont disparu d'un écosystème lacustre après l'introduction des néonicotinoïdes dans les pratiques agricoles d'un bassin versant en 1993. Même s'il a quelques nouvelles espèces qui se sont établies, cette disparition des chironomes et autres proies a contribué à l'effondrement de la pêche locale¹⁵¹. Ces résultats confirment les corrélations obtenues par Hallmann et al. (2014)³⁶².

Les épandages de *Bti* n'affectaient pas l'abondance de la nourriture (annélides, mollusques, crustacées et insectes) pour les oiseaux (sauvagine et échassiers) dans des milieux humides salés et à marées sur la côte de Bretagne (site Ramsar; France). Il y a eu 47 applications manuelles pendant une période de 7 ans, à une fréquence d'environ 8 par année, lorsque le nombre de larves de moustiques dépassait 5 par litre. Le

VectoBac WG a été utilisé de 2006 à juin 2011 à une concentration de 300 g/ha, $0.9 \cdot 10^9$ ITU/ha et de juillet 2011 à octobre 2012, à une concentration de 220 g/ha, $0.66 \cdot 10^9$ ITU/ha; (correspondant à un dosage recommandé; Lagadic et al. 2014²¹⁹).

St. Louis *et al.* (1990)³⁶⁴ ont étudié le comportement de recherche de nourriture des Hirondelles bicolores (*Tachycineta bicolor*) dans le nord-ouest de l'Ontario. Ils ont observé que les hirondelles reproductrices consomment une quantité importante de chironomidés adultes provenant des lacs avoisinant les nids avant de chercher leur nourriture ailleurs³⁶⁴. L'abondance des chironomidés est maximale au cours de la période où les hirondelles produisent leurs œufs et diminue significativement au moment de l'incubation et des soins aux oisillons³⁶⁴. Les données indiquent que le succès reproducteur des hirondelles qui nichent près de lacs peut être hypothéqué s'il survient des changements dans la quantité ou la qualité des chironomidés en émergence à la suite des modifications de l'écosystème³⁶⁴.

Bien que la disponibilité de proies devrait affecter la reproduction des oiseaux insectivores, Imlay *et al.* (2017)³⁶⁵ ont démontré que la quantité de nourriture n'affectait pas la survie et le poids des oisillons de trois espèces d'hirondelles [l'Hirondelle rustique (*Hirundo rustica*), l'Hirondelle à front blanc (*Petrochelidon pyrrhonota*) et l'Hirondelle bicolore (*T. bicolor*)] en 2014 et 2015 au Nouveau-Brunswick. Ainsi, le succès de reproduction de ces espèces d'hirondelles n'était pas relié à la quantité d'insectes dans l'aire d'étude, où 86,5 % de la biomasse était constituée de diptères, de coléoptères et d'hyménoptères³⁶⁵. Ainsi, la nourriture est tellement abondante dans la région où ces travaux ont été faits, que même lorsqu'elle atteint ses niveaux les plus bas elle n'est toujours pas limitante. De plus, Imlay *et al.* (2018)³⁶⁶ ont comparé le succès de reproduction de ces trois espèces d'hirondelles et de l'Hirondelle de rivage (*Riparia riparia*) dans les provinces maritimes avant (1962-1972) et après (2006-2016) le début du déclin des populations des oiseaux insectivores aériens. Lors de ces 57 ans, il y a eu une multitude de modifications anthropiques des écosystèmes tels que l'utilisation des pesticides et les changements climatiques³⁶⁶. Le début de la période de nidification a été devancé de 8-10 jours pour toutes les espèces sauf pour l'Hirondelle de rivage³⁶⁶. Ils ont observé un déclin significatif pour le succès de reproduction des Hirondelles de rivage, une augmentation du succès de reproduction pour l'Hirondelle rustique et l'Hirondelle bicolore ainsi qu'un maintien du succès de reproduction pour l'Hirondelle à front blanc³⁶⁶. Ces résultats suggèrent que la diminution du succès de reproduction des Hirondelles de rivage pourrait contribuer au déclin de la population de cette espèce, mais le succès de reproduction n'a pas varié pour les trois autres espèces³⁶⁶. Lors de cette seconde étude, il n'y avait pas de données sur l'abondance et la composition des insectes en général ou sur la nourriture ingérée par les hirondelles³⁶⁶. Ainsi ils³⁶⁶ ne

peuvent pas inférer les causes des variations des populations d'Hirondelles dans la région. Par ailleurs, le COSEPAC (2013)³⁶⁷ attribue le déclin des populations des Hirondelles de rivage aux effets cumulatifs de plusieurs facteurs tels que la perte d'habitat de reproduction et d'alimentation, la destruction des nids, l'utilisation des pesticides et des menaces durant la migration.

Plusieurs espèces d'oiseaux granivores passent par un stade insectivore au début de leur vie et pendant la période de reproduction. Donc, la réduction des populations d'invertébrés peut provoquer un problème alimentaire important. Les petites pertes pendant la reproduction s'accumulent nid par nid, ainsi les populations ne pourront pas être remplacées³⁶⁸. Ceci est surtout important pour des populations d'oiseaux avec une espérance de vie plus courte (généralement des petites espèces), où la perte d'une année de reproduction peut affecter l'effectif de la population. De plus, au printemps, les oiseaux granivores migrateurs doivent compenser le manque de graines, leur nourriture préférée, par celle qui est présente, par exemple les insectes émergents³⁶⁹. Les populations de martinets ramoneurs sont un bon exemple canadien du changement de fonctionnement de l'écosystème et du réseau trophique après la disparition de leurs proies habituelles. L'analyse des fientes (guano) des martinets ramoneurs accumulés pendant 48 ans dans des cheminées utilisées par cette espèce, en Ontario, a démontré que la diète de l'espèce avait changé considérablement avec une diminution des coléoptères, remplacés par des insectes de plus petites tailles après l'arrivée du DDT^{272,370}.

Ainsi, il y a potentiellement des changements dans le fonctionnement de l'écosystème via une augmentation ou une diminution de l'abondance des proies suite aux épandages. Par exemple, pendant un suivi de six ans, l'épandage de *Bti* (VectoBac G en moyenne 8,5, 11,5 et 15 kg/ha²⁴⁶ ou 170 000, 230 000 et 300 000 ITU/m², voir Annexe 1) n'a pas eu d'effet sur la reproduction, la croissance et le comportement alimentaire des carouges à épaulettes (*Agelaius phoeniceus*) dans des milieux humides du Minnesota³⁷¹. Or, le carouge à épaulettes est un oiseau généraliste, dont la diète varie au fil des saisons et pendant la période de reproduction, il se nourrit plutôt d'insectes capturés au sol³⁶⁹. De plus, il n'y a pas eu d'effets de l'application de *Bti* sur la communauté d'oiseaux de 19 espèces, dont trois insectivores aériens (l'Hirondelle bicolor, l'Hirondelle à front blanc et l'Hirondelle rustique) malgré les réductions importantes des insectes aquatiques au milieu et à la fin de l'été suite au traitement avec le *Bti*³⁷².

Bellavance *et al.* (2018)³⁷³ ont comparé la composition des becquées des Hirondelles bicolores, *T. bicolor* (Passeriformes : Hirundinidae), espèce fortement en déclin³⁵³ dans le sud du Québec, avec la composition des populations d'insectes aériens disponibles. Parmi ces insectes, les diptères étaient le groupe le plus important, dominé par les espèces du sous-ordre des nématocères (Culicidés (moustiques), Simulidés,

Tipulidés, Cécidomyidés, Chironomidés). Ces derniers étaient présents dans la nourriture d'oisillons, mais proportionnellement en quantité moindre par rapport à l'ensemble des insectes disponibles, car les Hirondelles bicolores ont tendance à sélectionner de proies plus grosses³⁷³. Ainsi, ces oiseaux s'adaptent à des changements de nourriture disponible dans des environnements différents en sélectionnant leurs proies³⁷³. La nourriture des oisillons de l'Hirondelle bicolore dans le nord-ouest de l'Ontario est constituée, en termes de nombre, principalement de chironomes, des éphémères et d'autres diptères (empidés, muscidés et phoridés) en termes de biomasse, elle est constituée des taons (14,8 %) et d'éphémères (13,4 %), suivis de chironomidés (5,4 %) et de muscidés (4 %)³⁷⁴. Lors de la période de reproduction, la nourriture de cette espèce provient majoritairement des milieux aquatiques : 65 % pour les oisillons, 71 % pour les femelles pondeuses et 55 % pour les adultes en général³⁷⁴. La nourriture des femelles pondeuses est surtout constituée de chironomes, de simulies et d'éphémères, alors qu'elle est caractérisée par des proies plus grosses chez ces oisillons³⁷⁴. Les auteurs de cette étude ne mentionnent pas les moustiques dans leur publication³⁷⁴. Ceci démontre que les moustiques ne représentent pas une source de nourriture importante et qu'un épandage de *Bti* n'affecterait pas l'Hirondelle bicolore dans la région étudiée si les effets y sont restreints. Or, comme les chironomes sont susceptibles d'être affectés par l'épandage de *Bti*, l'Hirondelle bicolore pourrait tout de même être affectée dans cette région par l'élimination de cette portion de leur nourriture. Les auteurs mentionnent d'ailleurs à plusieurs reprises que les chironomes (et simulies) sont importants dans la diète (surtout le matin) de l'Hirondelle bicolore³⁷⁴.

L'Engoulevent d'Amérique (*Chordeiles minor*; Caprimulgiformes : Caprimulgidae) et l'Engoulevent bois-pourri (*Antrastomus vociferus*; Caprimulgiformes : Caprimulgidae) s'alimentent très activement dans la période entourant le lever et le coucher du soleil. Ils sont crépusculaires. Ces espèces ne sont cependant pas reconnues pour manger beaucoup de moustiques (Comm. pers. François Shaffer, 1er mai 2019), mais plutôt des insectes plus grands^{375,377}.

Le suivi des effets des épandages de *Bti* sur une période de 10 ans dans la Camargue, sur les populations de l'Hirondelle de fenêtre, *Delichon urbicum* (Passeriformes : Hirundinidae), a permis d'étudier les effectifs des populations, le régime alimentaire des oisillons, les disponibilités alimentaires, ainsi que le succès reproducteur dans des sites traités et des sites témoins²⁵³. À Montréal en 2019, Mme Poulin²⁵³ a présenté des données pas encore publiées (comm. pers. B. Poulin 15 juillet 2019) où les abondances de moustiques et de chironomes étaient toutes deux réduites de 80 % dans le « plancton aérien » dans les zones traitées au *Bti*²⁵³. L'abondance des chironomes, mesurée avec des pièges, était réduite de 51 % dans les roselières et de 39 % dans des sansouires^{187,253}. De plus, les résultats indiquent que les populations de

diptères, ainsi que des coléoptères, des thysanoptères, des araignées et des odonates, ont été affectées^{178,177}. Ceci aurait un effet sur les populations de certains oiseaux insectivores. Le taux de recherche de nourriture ainsi que la diète des oisillons de l'Hirondelle de fenêtre ont été étudiés avant l'épandage de *Bti* et pendant trois ans avec épandage³⁷⁸. La consommation des diptères, des chironomidés et des moustiques, ainsi que leurs prédateurs (araignées et libellules) a diminué de manière significative dans les sites traités au *Bti*. En même temps, la consommation de fourmis volantes y a augmenté significativement afin de compenser le déclin en abondance et en consommation des nématocères, araignées et libellules³⁷⁸. Les fourmis volantes font partie de la nourriture des hirondelles adultes, mais moins pour des oisillons, probablement à cause de leur contenu élevé en chitine³⁷⁸, qui diminue leur valeur nutritive²⁵³. L'augmentation de la consommation de fourmis volantes par les oisillons dans les sites témoins pourrait refléter une meilleure assimilation de la nourriture en grandissant³⁷⁸. Dans les sites traités, la nourriture consistait davantage en de petites proies (<2,5 mm). Or, dans les sites témoin, les proies étaient plus grandes (>7,5 mm)³⁷⁸. Pourtant, avant le début des épandages de *Bti*, en 2006, il n'y avait pas de différence entre les taxons et la taille des proies des sites traités et des sites témoins³⁷⁸. Le taux de succès de recherche de nourriture (c.-à-d. le nombre de vols par des adultes permettant de rapporter de la nourriture aux juvéniles par unité de temps) était significativement plus faible dans les sites traités au *Bti*, probablement parce qu'il y avait moins de proies ou parce que les proies étaient d'une moindre qualité³⁷⁸. La taille de la nichée et le taux de survie des oisillons étaient significativement plus faibles dans les sites traités comparés aux sites témoins (2,3 versus 3,2 oisillons par nid, respectivement). Le succès de reproduction a été positivement corrélé avec la consommation de diptères et de leurs prédateurs durant la période de nidification³⁷⁸. Le suivi de l'Hirondelle de fenêtre, qui couvre actuellement une période de 10 ans (2006-2015)¹⁷⁷, a montré une baisse de 22 % des effectifs d'hirondelles sur les sites traités par rapport aux sites témoins en 2015¹⁷⁷. De plus, les données sur le régime alimentaire par l'analyse des fèces montrent que les moustiques et les chironomes étaient plus faciles à digérer pour les oisillons de l'Hirondelle de fenêtre que les autres insectes²⁵³. L'indice de disponibilités alimentaires pour les passereaux paludicoles nichant en roselières était significativement inférieur sur les sites traités au *Bti* (à une concentration légèrement au-dessus du taux recommandé) comparativement aux sites témoins en Camargue¹⁷⁸. De plus, dans un des sites, il n'y avait eu aucun rétablissement des communautés d'invertébrés servant de nourriture aux passereaux paludicoles 18 mois après l'arrêt des traitements¹⁷⁸. Selon Poulin et Lefebvre (2016)¹⁷⁹, la réduction des arthropodes causée par le *Bti* représente une diminution de 34 % de nourriture potentielle pour des passereaux dans la Camargue, mais les auteurs ne présentent pas de données sur l'abondance des passereaux pour la période d'étude. Également, une

diminution significative (en moyenne 52 %) de plusieurs espèces d'oiseaux d'eau associées aux milieux traités (foulque macroule (*Fulica atra*), canard colvert (*Anas platyrhynchos*), canard chipeau (*Mareca strepera*), grèbe huppé (*Podiceps cristatus*), huîtrier pie (*Haematopus ostralegus*)) dans des sites du suivi a été détectée^{177,178,253}. Ce déclin n'a pas été observé dans les espaces naturels de la Camargue non traités au *Bti*¹⁷⁷. Lagadic *et al.* (2014)²²⁰ suggèrent qu'il y a des différences entre les variables écologiques entre les sites traités et les sites de contrôle qui pourraient expliquer les impacts observés sur la reproduction de l'Hirondelle de fenêtre en Camargue^{177,178,187,253,378}. Cet argument est repris par l'industrie pour critiquer ces travaux^{202,312}.

Timmermann et Becker (2017)²⁰²; employés du KABS) ont analysé des données publiées et non publiées, obtenues entre 1989 et 1991, sur l'abondance d'insectes aériens, ainsi que sur la nourriture des oisillons de l'Hirondelle de fenêtre (*D. urbicum*) dans la vallée du Rhin en Allemagne. L'analyse a été faite dans des zones avec et sans épandage de *Bti* (voir section 5.2). Contrairement à l'étude en Camargue, les auteurs ont montré qu'il n'y avait pas d'impact sur la communauté d'insectes dans les zones inondables de la vallée du Rhin. De plus, la nourriture donnée aux oisillons de l'hirondelle changeait de la première couvée à la deuxième, reflétant le changement observé dans l'abondance d'insectes disponibles. Dans cette étude, le moucheron était à certains moments la proie potentielle la plus abondante (> 40%), mais elle n'était pas utilisée pour nourrir la deuxième couvée²⁰². Les auteurs précisent que leurs résultats ne corroborent pas les observations de Poulin *et al.* (2010)³⁷⁸ sur le taux de reproduction de l'Hirondelle de fenêtre. De plus, ils²⁰² indiquent que Poulin *et al.* (2010)³⁷⁸ n'ont pas de données sur la densité des proies potentielles. Timmermann et Becker²⁰² ne se réfèrent pas aux travaux de Poulin *et al.* portant sur les stades adultes des odonates (libellules et demoiselles), sur les chironomidés et sur le lien de causalité entre l'épandage de *Bti* dans la Camargue et la diminution de l'abondance des odonates^{187,177}. Il est important aussi de tenir compte du déclin de 75 % d'insectes en Allemagne, plus précisément à Krefeld, un peu plus au Nord le long du Rhin (Hallmann *et al.* 2017²⁷⁶ et aussi ^{269,273,275}). Ainsi, les densités d'insectes sont présentement beaucoup plus basses aujourd'hui qu'il y a 30 ans lors des travaux de terrain faits par Timmermann et Becker et analysés en 2017²⁰².

Schraut et Wink (2018)³⁷⁹ ont observé dans une réserve pour la conservation de la nature, entourée par un bras mort du Rhin, un déclin important pour la majorité d'espèces d'oiseaux nicheurs et une augmentation pour une minorité entre 1974 à 1979 et 2017. Les oiseaux les plus affectés sont les insectivores des milieux humides avec un déclin de -92 % suivi par des insectivores associés à un paysage ouvert/culture (-86 %) et des insectivores forestiers (-37 %)³⁷⁹. Les oiseaux non insectivores les plus

affectés sont ceux associés à un paysage ouvert/culture (-82 %), suivi par les oiseaux forestiers (-70 %) et des milieux humides (-35 %)³⁷⁹. KABS a commencé son programme de contrôle d'insectes piqueurs dans la région il y a près de 40 ans¹⁹⁴, et les auteurs mentionnent que ceci pourrait avoir affecté les oiseaux insectivores des milieux humides³⁷⁹.

De manière générale, les chironomes, tant les larves que les adultes émergents, constituent une source de nourriture majeure pour les niveaux trophiques supérieurs dans les milieux aquatiques temporaires et permanents, car ils sont omniprésents et très abondants^{196,232,380,381}. Charbonneau *et al.* (1994)²⁴⁵ ont évalué l'impact de VectoBac G (5,6 kg/ha et 28 kg/ha, c.-à-d. le taux recommandé et 5x ce taux, selon²⁴⁵) en mésocosmes dans deux milieux humides au Minnesota, aux États-Unis, sur la survie des macroinvertébrés comme source de nourriture pour la sauvagine. Ils concluent que les épandages n'avaient pas d'impact sur les taxa des macroinvertébrés les plus abondants, mais ils mentionnent aussi qu'il faut faire des études supplémentaires afin de mitiger les impacts potentiels sur des chironomes²⁴⁵.

Les canards barboteurs, *Anas* spp. (Anseriformes : Anatidae), nichent partout dans les forêts boréales du Québec méridional, dépendant de l'espèce (Robert *et al.* 2019³⁸²). Dans les forêts boréales scandinaves, les oisillons des canards barboteurs dépendent des insectes émergents, surtout des chironomidés, pendant les premières semaines de leur vie^{383,384}. Il a même été suggéré que l'éclosion des oisillons est synchronisée avec les pics d'abondance des insectes émergents³⁸³. Dessborn *et al.* (2009)³⁸³ ont observé que le taux de succès de reproduction de ces canards était corrélé avec la quantité de chironomidés émergents à l'échelle d'un lac. Cette observation a été confirmée par Hansson *et al.* (2014)³⁸⁴. Dessborn *et al.* (2009)³⁸³ précisent que la période d'émergence des différentes espèces de chironomidés combinées n'est pas assez courte, ni assez prédictible pour jouer un rôle important dans l'évolution de la synchronisation de la reproduction des canards barboteurs³⁸³. Dans le lac Michigan, aux États-Unis, les chironomidés peuvent constituer jusqu'à 88 % des insectes émergents, avec deux évènements d'émergence majeurs, du début du printemps jusqu'au début de l'été ainsi que de la fin de l'été jusqu'au début de l'automne. Ces évènements sont une source d'énergie importante pour la reproduction des canards, ainsi que pour les oiseaux migrateurs (MacKenzie et Kaster, 2004⁹⁴). Dans leur revue de littérature, Holopainen *et al.* (2015)³⁸⁵, distinguent les différentes étapes qui déterminent le succès reproducteur pour les canards des milieux humides dans les régions boréales humides : le choix du site (qualité) pour le nid incluant la morphologie du milieu et le succès des nids ainsi que la survie des canetons. Pour cette dernière étape, les insectes émergents sont un facteur si important que les femelles choisissent l'emplacement dans le lac en anticipant la possibilité de limitation de nourriture³⁸⁵. Des larves

et des pupes des moustiques ont été observées dans l'œsophage de différents canards au Dakota du Nord, et des femelles consomment en moyenne 3-5 fois plus de moustiques que des mâles (Meyer et Swanson 1982 dans³⁸⁶). Toutefois, la famine n'est pas nécessairement la cause de mortalité directe. En effet, elle affecte aussi d'autres éléments, telle que la vigilance, augmentant ainsi le risque de mortalité causée par des prédateurs³⁸⁷. Au Québec, le pic de la période de nidification des canards barboteurs tels que le canard colvert, *Anas platyrhynchos*, est généralement de la mi-avril à la mi-juin et la période d'élevage est de juin à août et pour le canard noir, *Anas rubripes*, de mai à mi-juin et juin à août, respectivement (comm. pers. Jean Rodrigue, 1er mai 2019;³⁷⁰). Cette période correspond aussi à la saison d'épandage de *Bti* au Québec et une diminution de l'émergence d'insectes pourrait affecter les populations de ces canards.

Beaucoup de canards plongeurs (aussi appelé canards de mer; Ansériformes : Anatidae, tribu Aythyinae) d'Amérique du Nord et d'Europe utilisent des milieux humides des forêts boréales pendant la période de reproduction (Holopainen *et al.* 2015³⁸⁵). Dépendant de l'espèce, on peut les trouver partout dans le Québec méridional (Robert *et al.* 2019³⁸²). Comme pour les canards barboteurs, le taux de succès de reproduction des canards plongeurs est corrélé avec l'abondance de nourriture tant pour les invertébrés benthiques, les nektoniques^{dd} ainsi que le zooplancton³⁸⁵. De plus, la composition taxonomique ainsi que la distribution des classes de taille peuvent jouer un rôle important pour la sélection des plans d'eau³⁸⁵. L'Arlequin plongeur (*Histrionicus histrionicus*; Ansériformes : Anatidae)³⁸⁸ et le Garrot d'Islande (*Bucephala islandica*; Ansériformes : Anatidae) sont des canards plongeurs désignés préoccupants dans l'est du Canada³⁸⁹. L'Arlequin plongeur est reconnu pour s'alimenter de larves de simules sur les aires de nidification^{390,391}. Il niche cependant peu là où il y a des épandages de *Bti*, sauf peut-être en Gaspésie, la Basse-Côte-Nord et le nord du Québec. Il n'y a pas de données sur le régime alimentaire de la population de l'Est du Garrot d'Islande publiée à ce jour (comm. perso. Michel Robert, 4 mai 2020). Lors de la période de reproduction, le Garrot d'Islande fréquente de préférence des lacs sans poisson au Québec³⁹². Les femelles avec des canetons du Garrot d'Islande suivent les plus hautes densités des larves simules, source principale de nourriture pour les jeunes, dans la région du lac Myvatn, en Islande³⁹³. Et dans des lacs de l'intérieur en Colombie-Britannique, l'essentiel du régime pendant la période de reproduction du Garrot d'Islande serait composé d'insectes (Trichoptères, Anisoptères, Zygoptères, Corixidae, Chaoborinae, Chironomidae)³⁹⁴. L'abondance de différentes proies aquatiques telles que les espèces ciblées, les moustiques, mais aussi telles que les espèces non ciblées, comme les chironomides^{197,230}, les daphnies et copepodes²⁹³ et les ostracodes²⁹⁷ pourrait être affectée par l'épandage de *Bti* ainsi que l'abondance des

^{dd} Qui nage pour se déplacer.

organismes aquatiques carnivores qui dépendent de ces organismes, comme discuté dans la section 6. Ces modifications dans les réseaux trophiques pourraient affecter le taux de reproduction des canards plongeurs.

Par ailleurs, au Canada, les populations de sauvagine (canards et oies) de la région du sud du Bouclier canadien et des Maritimes augmentent³⁵⁴. Cet accroissement reflète entre autres les activités de restauration et de conservation des sols, la réduction des contaminants et le succès de la gestion de la chasse et des milieux humides dans le cadre du Plan nord-américain de gestion de la sauvagine³⁵⁴. Rosenberg *et al.* (2019)³⁵³ estiment que la population de la sauvagine a augmenté de 44 % en Amérique du Nord entre 1970 et 2017 et celle des oiseaux associés aux milieux humides de 47 %³⁵³.

Tel que mentionné précédemment, Fang (2010)²⁶⁵ dans son article sur les impacts de l'élimination des moustiques comme vecteur de maladies, ne mentionne pas le potentiel de l'impact de l'élimination de cette biomasse ainsi que celle des espèces non ciblées sur des carnivores, les réseaux trophiques et les écosystèmes. Elle indique que d'autres organismes moins nocifs pour les humains pourront les remplacer²⁶⁵, mais cette source de nourriture alternative est potentiellement d'une qualité moindre comme observée en Camargue³⁷⁸.

10.2. CONCLUSION

De façon générale, les pesticides sont un des facteurs de stress importants sur les populations d'oiseaux insectivores, déjà en déclin. Parmi les différentes études recensées, peu abordent les impacts directs des toxines du *Bti* ou de ses formulations sur les oiseaux. Toutefois, il ne semble pas y avoir d'effet sur la morbidité ou sur la mortalité des oiseaux^{5,30}. Certaines toxines de Bt nouvellement isolées, les parasporins³⁵, ne font pas encore l'objet d'études. Actuellement, le seul impact direct anticipable est associé au dérangement, lors des épandages pendant la période de nidification ou d'élevage des oisillons¹⁷⁸.

À première vue, il semble y avoir une corrélation entre le déclin des populations d'oiseaux insectivores aériens et le déclin des populations de leurs proies. Afin de mesurer les effets indirects du *Bti* et les risques liés aux épandages sur les oiseaux au Québec, il serait pertinent de connaître l'importance des diptères ciblés par cet insecticide (incluant les chironomidés) dans leurs régimes alimentaires et nécessaire pour maintenir leurs populations et l'intégrité de l'écosystème. Étant donné l'importance des chironomidés

comme nourriture pour les oisillons des canards barboteurs^{383,384,395,396} ainsi que la susceptibilité de ces insectes au *Bti*, ces épandages peuvent potentiellement avoir un effet important sur la population de sauvagine au Québec. De plus, plusieurs espèces de canards sont particulièrement sensibles au dérangement causé par les avions et hélicoptères volant à basse altitude (Canard colvert et Canard chipeau en Camargue; Brigitte Poulin, comm. pers. 5 mars 2019). Dans la section précédente, certaines publications mentionnent que les larves des chironomidés semblent beaucoup moins sensibles au *Bti* que les larves de moustiques^{30,316,218}. Or, d'autres études^{141,236,196,227} montrent que les larves de chironomes peuvent être tuées aux concentrations de *Bti* qu'on pourrait observer suite à des épandages avec des taux d'application utilisés au Québec. Cette situation pourrait aussi s'aggraver lorsque les spores de *Bti* s'accumulent suite à de multiples épandages ou au recyclage du *Bti*^{168,45} (voir section 4). Les canetons des canards barboteurs (*Anas* spp.) ont besoin d'une nourriture riche en protéines pendant les premières semaines de vie afin de croître et de survivre. La majorité de leur nourriture pendant cette période provient d'insectes émergents et ce sont les diptères, spécialement les chironomidés, qui constituent la majorité de la diète des canetons^{383,384,395,396}. Ainsi, dans des sites où le *Bti* se recycle ou s'accumule, les larves de chironomidés, incluant certaines espèces présentes au Québec⁵, pourraient être éliminées et la croissance ou la survie des canetons de canards barboteurs pourrait être affectée.

Les insectes émergents tels que les moustiques et les chironomidés font partie des principales sources de nourriture pour les araignées et les libellules dans des zones riveraines et dans les milieux humides. En Camargue, la réduction des densités de moustiques et de chironomidés a provoqué une réduction considérable de l'abondance des araignées et des libellules, qui sont la nourriture préférée des oisillons de l'Hirondelle de fenêtre. Ainsi, l'épandage de *Bti* a diminué le taux de succès de la reproduction de cette espèce d'hirondelle⁵². Ceci montre que l'épandage de *Bti* pourrait modifier le fonctionnement de l'écosystème quand une espèce clé est supprimée du réseau trophique. Il est possible que la situation de la Camargue soit unique, néanmoins, il est important de considérer que partout dans le monde, des oiseaux ou d'autres organismes occupent des niches écologiques équivalentes à celle de l'Hirondelle de fenêtre.

En général, face à des perturbations, les écosystèmes en santé semblent résilients et les diverses composantes du réseau trophique peuvent s'adapter au changement. Dans ce cas, l'impact serait inversement proportionnel à la complexité de l'écosystème, car plus les écosystèmes sont complexes, plus il y aura de doublons et de maillons dans les réseaux trophiques^{397,398}. Cependant, il n'y a pas consensus sur cette conclusion (Landi et al. 2018³⁹⁹). En effet, différentes espèces et différentes communautés

réagissent différemment à des perturbations de l'écosystème tel que l'élimination d'une source de nourriture, et ceci peut déstabiliser cet écosystème³⁹⁹⁻⁴⁰³. La majorité des facteurs de stress, incluant une diminution de la biodiversité, résultent généralement en une simplification des réseaux trophiques en concentrant les flux d'énergie par moins de chemins⁴⁰⁴. Ceci peut affecter la persistance des communautés présentes dans les écosystèmes⁴⁰⁴. De plus, les caractéristiques propres incluant les différentes sources de stress de chaque écosystème détermineront le niveau de résilience. C'est pourquoi il serait important d'examiner le lien historique entre l'état des populations des oiseaux insectivores et les épandages de *Bti* au Québec depuis 1982, si ces données peuvent être retrouvées, afin de déterminer si ces écosystèmes se sont modifiés par rapport à ceux où il n'y a jamais eu d'épandage. Dans cette perspective, on peut s'attendre à ce qu'à l'intérieur des groupes d'oiseaux qui se nourrissent d'insectes émergents au printemps, les espèces d'oiseaux spécialistes des insectes sensibles au *Bti* puissent être affectées. Les oiseaux généralistes seraient moins touchés, car étant plutôt opportunistes, ils peuvent s'acclimater aux variations de nourriture.

11. Effets sur les chauves-souris

Au Québec, il y a huit espèces de chauves-souris⁴⁰⁵, dont cinq sont identifiées comme susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables³⁰⁴. Un peu plus de 90 % des populations des chauves-souris cavernicoles ont été décimées par le syndrome du museau blanc⁴⁰⁵. Parmi ces espèces, la petite chauve-souris brune, *Myotis lucifugus* (Chiroptera : Vespertilionidae), la chauve-souris nordique, *Myotis septentrionalis* (Chiroptera : Vespertilionidae), et la pipistrelle de l'Est, *Perimyotis subflavus* (Chiroptera : Vespertilionidae) ont été désignées « en voie de disparition » au Canada⁴⁰⁶, alors que la pipistrelle de l'Est est susceptible d'être désignée menacée ou vulnérable au Québec³⁰⁴. Considérant l'état fragile des populations de la majorité des espèces de chauves-souris au Québec, l'évaluation de l'impact d'une réduction potentielle de l'abondance de nourriture par des épandages de *Bti* est primordiale. Les analyses des effets directs et indirects sur un groupe d'espèces non ciblées sont encore très rares, mais il y a eu récemment une première analyse des effets directs et indirects d'un groupe de pesticides (néonicotinoïdes) sur les chauves-souris⁴⁰⁷.

11.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs

Les chauves-souris vivent à proximité de l'eau. Elles sont rarement en contact direct avec l'eau, mais elles ont besoin de boire une eau douce de bonne qualité⁴⁰⁸. En principe, l'effet direct des épandages de *Bti* sur les chauves-souris (toxicité directe) est peu probable, car les mammifères ne sont pas affectés par les toxines de *Bti* selon des publications qui datent d'avant 2000³⁰. Par contre, Rubio-Infante et Moreno-Fierros (2015)³⁸ concluent dans leur revue de littérature, que si le terme « toxique » n'est peut-être pas approprié pour des mammifères, les toxines de *Bt* ont néanmoins des effets physiologiques qui peuvent devenir pathologiques. Différentes formes de spores et cristaux de *Bt* montraient des impacts cytotoxiques et génotoxiques sur des érythrocytes de souris (injection intra-abdominale 27, 136 et 270 mg/kg)⁴⁰⁹. Or, d'autres études n'ont pas observé les mêmes impacts⁴¹⁰⁻⁴¹². Par contre, Freire *et al.* (2014)⁴¹² ont observé des troubles hématologiques chez des souris après une exposition orale pendant 72 h (2 et 4*10⁹ spores/kg). Ils concluent que même si les effets observés sont reliés à des concentrations qui normalement ne se trouvent pas dans la nature, les spores et cristaux de *Bt* ne sont pas sans effet pour les souris⁴¹². Toutefois, des études sur les effets des formulations de *Bti* sur les chauves-souris semblent manquantes. Quant aux dérangements occasionnés par l'épandage, ils sont faibles, car les chauves-souris ne sont pas présentes dans le milieu pendant le jour. Des spores de *Btk* et *Bti* ont germé dans des intestins de rat, mais sans causer d'impacts, probablement en raison du nombre de cellules qui n'était pas assez élevé. En effet, on estime que des impacts surviennent quand il y a au moins 10⁶ cellules végétatives de *Bt* par ml dans des cultures de cellules⁴¹³.

Effets indirects

Les impacts indirects des épandages méritent plus d'attention, car les changements dans l'écosystème et le réseau trophique pourraient causer une diminution de proies potentielles pour les différentes espèces de chauves-souris. Par exemple, Allgeier *et al.* (2019) suggèrent que la réduction des populations de chironomidés, en plus de la réduction des moustiques, peut résulter en un effet négatif indirect pour les oiseaux, les chiroptères et pour d'autres organismes qui se nourrissent de ces insectes¹⁹⁷.

Étant donné que les chauves-souris sont des chasseuses nocturnes, il y a un chevauchement important de leur période d'activité avec celle des moustiques, surtout pendant le crépuscule. Cependant, selon Becker *et al.* (2010⁵; employé du KABS) les moustiques ne sont pas une source de nourriture importante pour la

majorité des chauves-souris, qui sont en général des prédateurs opportunistes d'insectes nocturnes⁵. Ils citent plusieurs études européennes qui ont démontré qu'une grande variété de ces insectes, souvent de plus grandes tailles que les moustiques, forment une part importante de la nourriture des chauves-souris. Les papillons nocturnes (Lepidoptera), les scarabées (Coleoptera), les chrysopes (Planipennia), les trichoptères (Trichoptera), les éphémères (Ephemeroptera) et les chironomidés (Chironomidae) se retrouvent parmi les proies préférées des chauves-souris⁵. En de rares occasions, quand leurs densités sont très élevées, les moustiques peuvent devenir des proies importantes pour certaines espèces de chauves-souris, par exemple pour la Sérotine de Nilsson, *Eptesicus nilssonii* (Chiroptera : Vespertilionidae), durant l'été dans le nord de la Suède (Rydel 1990 dans⁵).

En Australie, une étude sur l'utilisation du territoire de chasse dans différents habitats côtiers par 13 espèces de chauves-souris en lien avec des densités de moustiques, principalement *Aedes vigilax*, et d'autres proies montre que seulement pour le genre *Vespadelus spp.* (Chiroptera : Vespertilionidae), il y a une corrélation positive entre les zones d'abondance de moustiques et leur activité d'alimentation (Gonsalves *et al.* 2013)⁴¹⁴. Ces chauves-souris sont très petites et utilisent un système d'écholocation haute fréquence adapté pour des petites proies⁴¹⁴. Les différences du système d'écholocation et de la morphologie des ailes déterminent les zones de chasse des autres espèces⁴¹⁴. Dans une deuxième étude, ayant eu cours dans la même région, sur les étendues du territoire d'alimentation de l'espèce *Vespadelus vulturnus*, dans des marécages côtiers où l'implantation d'un programme de démoustication à l'aide du *Bti* était envisagée, il a été observé que ces chauves-souris adaptaient leurs zones de chasse à la densité de moustiques. Quand les moustiques s'éloignaient de la côte, les chauves-souris se déplaçaient aussi vers l'intérieur des terres⁴¹⁵. Les auteurs suggèrent d'éviter les épandages de *Bti* au printemps et en début d'été, pendant la période de lactation de ces chauves-souris durant laquelle les femelles sont plus vulnérables⁴¹⁵. Les chauves-souris du genre *Vespadelus* sont plus petites que les espèces québécoises, ainsi ces observations ne sont pas nécessairement applicables pour nos espèces (comm. pers. Nathalie Desrosiers, 12 juin 2019).

Une étude japonaise a démontré que les insectes aquatiques émergents déterminent la distribution de deux espèces de chauves-souris (*Myotis sp.*). Elles ne s'alimentaient pas au-dessus des sections de cours d'eau et d'étangs où les insectes émergents étaient bloqués par des filets avec des mailles d'un mm²¹¹.

La petite chauve-souris brune, *M. lucifugus*, est présente partout au Canada (sauf au Nunavut)⁴⁰⁶. Elle se nourrit d'insectes émergents⁴¹⁶ au-dessus des plans d'eau, tels que les diptères et les trichoptères⁴¹⁷. En combinant toutes les observations à travers le Canada, il s'avère que la diète des populations présentes

dans les maternités, i.e. en majorité composée de femelles et de jeunes, est dominée par des diptères (sans précision sur les espèces) pendant la période de reproduction en mai - mi-juin (analyses génétiques du guano)⁴¹⁷. Pendant cette période, en Saskatchewan, la nourriture était composée exclusivement de diptères⁴¹⁷. Par la suite, les populations de la petite chauve-souris brune ont consommé plus de lépidoptères et de trichoptères. Ce changement est moins prononcé en Ontario⁴¹⁷. Les résultats pour le Québec (parcs nationaux de la Jacques-Cartier et d'Aiguebelle ainsi que dans la forêt Montmorency) montrent que les petites chauves-souris brunes mâles consomment surtout des diptères⁴¹⁷. Les données pour les femelles sont manquantes⁴¹⁷. En général, les lépidoptères représentent 35 % de la nourriture au début de l'été et 55 % à la fin d'été pour la petite chauve-souris brune⁴¹⁷. Une autre étude, effectuée en Ontario, montre que les individus dans les maternités de la petite chauve-souris brune consomment des diptères, particulièrement les chironomidés et des éphémères, surtout du genre *Caenis*⁴¹⁸. Les proies identifiées à l'espèce suggèrent que les différentes colonies de chauves-souris utilisent des habitats différents : les individus d'une maternité en milieu agricole mangent davantage les insectes qui émergent des rivières et ruisseaux (milieux lotiques) et les individus associés au milieu forestier attrapent plus des proies provenant des mares et des lacs (milieux lenticques)⁴¹⁸. Aucun moustique n'a été détecté dans le guano lors de cette étude ontarienne⁴¹⁸. Sur Grosse-Île, au Québec, le domaine vital des femelles de la petite chauve-souris brune en lactation est en moyenne de 17,6 ha et celui des femelles gravides de 30,1 ha (Henry *et al.*, 2002)⁴⁰⁸. Les femelles en lactation consomment jusqu'à 100 % de leur poids en insectes par nuit⁴¹⁶ et s'éloignent rarement de plus de 600 m de la maternité⁴⁰⁸.

Dans le Wisconsin, aux États-Unis, les petites chauves-souris brunes consomment une plus grande diversité de moustiques que les grandes chauves-souris brunes *Eptesicus fuscus* (Chiroptera : Vespertilionidae)⁴¹⁹. Quinze espèces de moustiques ont été identifiées dans 71,9 % des échantillons de guano des petites chauves-souris brunes. Le guano des grandes chauves-souris brunes a montré des traces de sept espèces de moustiques dans 33 % des échantillons⁴¹⁹. Les auteurs suggèrent que la consommation de moustiques par des chauves-souris est plus importante que démontré dans le passé et que l'importance des interactions trophiques entre les moustiques et les chauves-souris devrait être réévaluée⁴¹⁹.

Les grandes chauves-souris brunes utilisent une grande variété d'habitats, incluant des milieux humides, et ont ainsi accès à une grande variété de proies⁴²⁰. Une étude faite en Ontario a montré que ces chauves-souris sont généralistes et qu'en plus d'une variation saisonnière, les proies de cette espèce montrent une variation annuelle. Les coléoptères sont les proies principales⁴²⁰. Toutefois, la consommation des

coléoptères varie, alors que celle des lépidoptères et des éphémères est plutôt constante. La diversité alimentaire augmente vers la fin de l'été, quand la diversité d'insectes diminue⁴²⁰. Les diptères étaient les proies dominantes au printemps (période de reproduction) une année sur deux et l'autre année la proportion de proies était stable de mai à septembre⁴²⁰. En 2008, au début de l'été, les diptères dominaient la diète des grandes chauves-souris brunes avec 43 % des espèces consommées, alors qu'en 2011 les coléoptères ont été le groupe dominant, avec 39 % des espèces consommées. Parmi les 28 espèces de diptères détectées, il y avait neuf espèces de chironomes, deux espèces de culicidés (*Culex pipens* et une espèce non identifiée) et une espèce de similie⁴²⁰. Par contre, la chauve-souris rousse *Lasiurus borealis* (Chiroptera : Vespertilionidae) consomme surtout des lépidoptères (Clare *et al.* 2009⁴²¹).

Les diptères font partie des proies de la chauve-souris nordique *M. septentrionalis* et des proies de la pipistrelle de l'Est *P. subflavus*⁴⁰⁶, mais l'importance de ces insectes dans leur diète n'est pas connue. En Alberta, les diptères étaient présents dans 50 à 60 % des estomacs des chauves-souris argentées *Lasionycteris noctivagans* et dans 25 à 45 % des estomacs des chauves-souris cendrées *Lasiurus cinereus* (Chiroptera : Vespertilionidae) étudiées lors de la migration automnale⁴²². Il n'y a pas de données détaillées sur la composition de la diète pour les autres espèces de chauves-souris au Canada. Toutes les espèces québécoises utilisent une grande variété d'habitats et sont généralistes (comm. pers. Nathalie Desrosiers 12 juin 2019).

En Allemagne, les chironomes sont la nourriture principale du murin de Daubenton, *Myotis daubentonii* (Chiroptera : Vespertilionidae), ils sont capables de fournir l'énergie nécessaire aux femelles gestantes ainsi qu'aux mâles lors des périodes de spermatogénèse⁴²³. L'état des populations de chauves-souris n'est pas évalué dans le cadre du suivi relatif à l'épandage de *Bti* dans les plaines inondables dans la vallée du Rhin (comm. perso. Carsten Brühl, 5 novembre 2019) autre que des observations de 1994 à 1997 présentées par Arnold *et al.*^{424–426} et qui ont été faites en collaboration avec KABS. La pipistrelle de Nathusius, *P. nathusii*, et le murin de Daubenton se nourrissent d'arthropodes, de petites et moyennes tailles, majoritairement des diptères⁴²⁶. Le murin de Daubenton se nourrit, au printemps, principalement de chironomidés (jusqu'à 82%) et en été d'insectes d'origine non aquatique⁴²⁶. Les essaims de chironomes sont une source de nourriture importante pour les populations de murins de Daubenton et de pipistrelles de Nathusius au printemps dans cette région⁴²⁶.

En Finlande, le murin de Daubenton se nourrit aussi principalement de chironomes, selon des analyses génétiques des fèces⁴²⁷, même à la fin de la saison quand les mouches noires deviennent plus abondantes parmi les proies potentielles⁴²⁸. De plus, la comparaison de la nourriture des différents individus montre

qu'il n'y a pas de préférences ou de spécialisation parmi les individus pour les différentes sources de nourriture⁴²⁸. L'analyse des fèces de 5 espèces de chiroptères finlandaises (*Eptesicus nilssonii*, *Myotis brandtii*, *M. daubentonii*, *M. mystacinus*, and *Plecotus auritus*) montre que les diptères et lépidoptères combinés constituent entre 80 et 90 % de toute la nourriture consommée par ces 5 espèces⁴²⁹. Chaque espèce consomme des proies différentes et chaque espèce a une préférence pour des proies de taille différentes⁴²⁹. Une autre étude scandinave⁴³⁰ montre que les chiroptères, principalement *Eptesicus nilssonii* et *Pipistrellus pipistrellus*, se nourrissent en mai-juin près des milieux humides et lacs eutrophes et en juillet-août plutôt éloignées des plans d'eau. Leur distribution est directement liée à l'abondance des insectes⁴³⁰. Plus de 90 % des insectes étaient des chironomes (41 espèces différentes) et les d'essaims de ces insectes attiraient des chauves-souris en grand nombre⁴³⁰. En Grande-Bretagne, la majorité des espèces des chiroptères se nourrissent principalement des diptères, parmi lesquels les chironomes dominant souvent⁴³¹.

Selon l'évaluation d'impact environnemental indépendante faite en Camargue, en France, l'utilisation de *Bti* à des dosages légèrement au-dessus du taux recommandé (voir section 5.1) peut réduire les émergences d'insectes aquatiques de plus de 50%, notamment celles des Nématocères^{178,177}. Il est démontré dans cette étude que la diminution des proies potentielles pourrait avoir un impact négatif sur les chiroptères de la Camargue (ils font référence spécifiquement aux pipistrelles insectivores), par la migration des individus qui ne trouvent plus à se nourrir suffisamment, la baisse de la natalité et une mortalité juvénile accrue. Des études préliminaires ont montré un effet négatif du *Bti* sur l'activité de chasse et le taux de capture de proies par la pipistrelle pygmée qui se nourrit essentiellement de chironomes^{178,177}. Cependant, l'amplitude de ces effets n'est pas précisée. D'autre part, la colonisation de nichoirs pendant trois ans n'a pas été affectée par l'épandage de *Bti*. Sur un total de 40 nichoirs installés en 2012, le nombre des nichoirs colonisés a augmenté graduellement passant de 1 en 2012 à 27 en 2015, avec 15 nichoirs localisés en zones déoustiquées (c.-à-d. 75 % des nichoirs sont occupés) et 12 en zones non déoustiquées (60 %)¹⁷⁷.

Fang (2010)²⁶⁵, dans son article sur l'élimination des moustiques comme vecteur de maladies, indique que la réduction de cette biomasse ne devrait pas impacter des organismes carnivores, les réseaux trophiques et l'écosystème, car d'autres organismes moins nocifs pour les humains pourront les remplacer. Or elle²⁶⁵ ne mentionne pas l'impact potentiel sur les espèces non ciblées.

11.2. CONCLUSIONS

Les toxines de *Bt* peuvent affecter des mammifères, mais comme les chauves-souris québécoises sont rarement en contact direct avec l'eau, les risques de contamination semblent peu élevés. Les impacts directs sur les chiroptères sont donc peu probables.

Bien que certaines publications signalent que les chauves-souris sont des prédateurs opportunistes pouvant s'adapter aux changements d'abondance et de diversité des insectes, des études faites sur la petite chauve-souris brune, *M. lucifugus*, à travers le Canada, indiquent que les diptères forment une part importante de la diète de cette espèce. On remarque aussi que pendant le mois de mai jusqu'à la mi-juin, bien que les données pour les femelles pour le Québec ne soient pas disponibles, les diptères, notamment les chironomidés pour les populations forestières⁴¹⁸, constituent la diète principale des individus au Québec (jeunes et adultes confondus)⁴¹⁷. Ainsi, les épandages de *Bti* pourraient constituer un risque pour la petite chauve-souris brune, particulièrement pendant la période de reproduction. Même si les espèces peuvent s'adapter à une variété d'insectes dans leur diète, on ignore si les femelles peuvent remplacer l'apport nutritif des insectes émergents par d'autres insectes présents lors de la période reproductive.

Étant donné que le domaine vital des femelles de la petite chauve-souris brune pendant la période de lactation est d'environ 18 ha⁴⁰⁸, le risque pour ces populations peut être important si l'on considère que les épandages aériens peuvent couvrir jusqu'à 5 000 ha au Québec, sans l'obligation de faire une évaluation environnementale.

Quant aux autres espèces de chauves-souris au Québec, il serait pertinent de mener une évaluation de l'importance saisonnière des diptères dans leur diète, tout en poursuivant un suivi des populations dans les régions où les épandages de *Bti* ont lieu. Néanmoins, l'impact du *Bti* appréhendé pour la petite chauve-souris brune pourrait être plus important que pour les autres espèces, car elle dépend plus des petites proies.

En plus de l'importance de la nourriture lors de la période reproduction, l'abondance de nourriture à la fin d'été et l'automne est aussi critique pour les chiroptères au Québec, car elles doivent accumuler des réserves afin de survivre à l'hibernation (comme étudié en Finlande⁴²⁸).

Finalement, si l'on considère que le syndrome du museau blanc⁴⁰⁵ est un facteur de mortalité important pour les chauves-souris, et que la petite chauve-souris brune, ainsi que deux autres espèces sont en « voie de disparition », le *Bti* constitue un stress additionnel pour les populations de chiroptères au Québec, car

il peut réduire la disponibilité des proies pour ces organismes et ainsi s'additionner à l'impact du syndrome du museau blanc sur ces populations.

12. Effets sur les écosystèmes, le phytoplancton, les communautés microbiennes et les cycles biogéochimiques

La présente section aborde l'effet du *Bti* sur plusieurs variables de l'écosystème et sur d'autres organismes non décrits dans les sections antérieures. Ce type d'études n'est pas systématique dans la littérature, alors il n'est pas possible de comparer les résultats obtenus pour une même variable environnementale.

12.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Effets directs et indirects

Les études sur l'effet du *Bti* dans les écosystèmes montrent que les impacts de ce composé peuvent être complexes. Les algues phytoplanctoniques représentent une source de nourriture importante pour les invertébrés des milieux humides (incluant les larves de moustiques, chironomes et simuliés). Elles jouent ainsi un rôle majeur dans les réseaux trophiques et le fonctionnement de ces écosystèmes. Les toxines du *Bti* ou d'autres composés présents dans leurs formulations pourraient affecter le phytoplancton directement. Une réduction du nombre de larves de moustiques suite aux épandages, pourrait modifier l'abondance et la composition de la communauté du phytoplancton par une réduction du broutage sélectif (Fayolle *et al.* 2016)⁴³². Toutefois, des suivis à court terme (11 jours suite à l'épandage, répété annuellement de 2006 à 2011) n'ont pas démontré d'effets négatifs ou positifs de l'application de VectoBac 12AS (2,5 l/ha = 319 750 ITU/m² ou 640 ITU/l, voir annexe 1) sur la densité totale et la diversité du phytoplancton dans des étangs vernaux de la Camargue⁴³². Les auteurs de cette étude concluent que l'application de *Bti* n'est pas un stress anthropogène pour la communauté phytoplanctonique et que le phytoplancton n'a pas été affecté indirectement par l'élimination des larves de moustiques⁴³². Ils ont quand même observé que la composition du phytoplancton a changé en seulement 11 jours, car les diatomées ont été remplacées par des algues résistantes à la sécheresse, mais ce changement ne semble pas dû au *Bti*⁴³². Koskella et Stotzky (2002)⁴³³ n'ont pas trouvé d'effets directs sur diverses espèces, surtout des algues vertes et des diatomées, suite à l'exposition à certaines toxines isolées et purifiées de différentes formes de *Bt*, incluant le *Bti*. De plus, la croissance de huit bactéries Gram positif et de cinq

bactéries Gram négatif, d'une cyanobactérie et de sept espèces de champignons (deux zygomycètes, un ascomycète, deux deutéromycètes et deux levures) n'a pas été affectée lors de tests en laboratoire⁴³³.

Le *Bti* pourrait avoir des effets indirects sur la communauté bactérienne des milieux humides, car les larves de moustiques se nourrissent principalement de microorganismes (bactéries, protozoaires et algues). En effet, l'élimination des larves de moustiques par l'application de *Bti* (VectoBac G 15 kg/ha ou 300 000 ITU/m²) résulte en une augmentation de 4,5 fois la densité et de 60 % de la diversité des protozoaires hétérotrophiques comparativement aux zones non traitées dans les plaines inondables autour du lac Färnebofjärden en Suède (Östman *et al.* 2008⁴³⁴). Ainsi, l'élimination des larves de moustiques a modifié de façon importante le fonctionnement du réseau trophique au niveau microbien. Une étude plus récente (Duguma *et al.* 2015⁴³⁵) a montré qu'une dose de 0,6 kg/ha ou 12 000 ITU/m² de la formulation VectoBac-G n'a pas affecté le fonctionnement du réseau trophique (communauté microbienne, production primaire, abondance du phytoplancton, concentration de seston, de phosphore et d'azote total dans l'eau et les cycles biogéochimiques). Une dose de 48,1 kg/ha ou 962 000 ITU/m² donne des résultats contraires, mais le taux maximal recommandé pour cette formulation est de 22,417 kg/ha ou 448 340 ITU/m² (voir annexe 1). Les auteurs de cette étude ont voulu dupliquer la dose utilisée dans une étude antérieure faite par Su et Mulla (1999)⁴³⁶, laquelle avait montré une réduction significative (95 à 99 %) de l'abondance de deux espèces de microalgues (*Closterium* sp. et *Chlorella* sp., Chlorophyta) dans des microcosmes traités avec la dose maximale recommandée pour le VectoBac-G.

Les toxines de *Bt*, et probablement aussi celles de *Bti* peuvent cheminer dans le réseau trophique sous des formes non prévues à l'origine. Par exemple, l'algue verte phytoplanctonique *Chlorella pyrenoidosa* est capable d'adsorber et de dégrader l'insecticide Cry1Ca, une des protéines toxiques de *Bt* provenant des plantes OGM, dans le milieu aquatique, sans influencer de manière positive ou négative leur croissance⁴³⁷. Des multiples spores de *Bti* peuvent être ingérées par le protozoaire *Tetrahymena pyriformis* (organisme eucaryote unicellulaire) et être encapsulées dans une vacuole alimentaire¹⁸⁰. Suite à l'excrétion de cette vacuole, le *Bti* est capable de se multiplier, de sporuler et de produire des endotoxines stables et actives¹⁸⁰. Ainsi, ce mécanisme pourrait faire partie des cycles naturels de transmission et de recyclage du *Bt* et avoir un impact sur des espèces non-ciblées^{22,180}.

Le *Bti* est capable de germer et de survivre dans des conditions marines⁴³⁸. Il pourrait se retrouver dans le milieu marin par accident suite à l'épandage dans des marais salés intertidaux ou en dehors de la zone visée ainsi que par le réseau hydrique connecté à la mer⁴³⁸. Par ailleurs, le *Bti* a été trouvé dans les récifs coralliens en Australie en association avec des éponges malades⁴³⁸. Toutefois, le VectoBac-G ne semble

pas être toxique de manière aiguë pour certaines espèces de coraux et d'éponges⁴³⁸. Negri *et al.* (2009)⁴³⁸ mentionnent le risque potentiel d'un transfert de matériels génétiques de *Bti* exotiques vers des bactéries indigènes, après une colonisation du milieu marin⁴³⁸.

Tetreau *et al.* (2018)⁴³⁹ ont observé que le microbiote intestinal des larves d'*Ae.aegypti* est modifié seulement quelques heures après l'exposition à des spores et cristaux de *Bti* isolées à partir de VectoBac WG, i.e. sans les différents composants de la formulation.

Finalement, il faut tenir compte des effets synergiques potentiels du *Bti* avec d'autres composés toxiques qui se retrouvent dans les écosystèmes ou les composantes des formulations (voir section 3). À ce jour, il y a très peu d'études sur ce sujet.

12.2. CONCLUSIONS

Bien que la littérature portant sur les effets du *Bti* sur plusieurs variables des écosystèmes humides ne soit pas abondante, plusieurs éléments peuvent être identifiés :

- a) Les toxines du *Bti* et certaines de ses formulations commerciales ne semblent pas avoir d'effets directs sur le phytoplancton excepté certaines chlorophytes.
- b) Certaines algues et bactéries ne sont pas affectées indirectement par les toxines du *Bti*.
- c) Il ne semble pas y avoir d'effets indirects sur la densité ou la diversité du phytoplancton suite à l'élimination de larves de moustiques par le *Bti*.
- d) Le microbiote intestinal des larves d'*Ae. aegypti* est modifié seulement quelques heures après l'exposition avec des spores et cristaux du *Bti*.
- e) Il pourrait y avoir un effet indirect sur la prédation ou le broutage sélectif des communautés microbiennes aquatiques (bactéries, protozoaires et algues) par les larves de moustiques ou de chironomes suite à leur élimination. Plus d'études seraient toutefois nécessaires pour bien démontrer cet effet au Québec.
- f) Les toxines du *Bti* peuvent être transportées et cette bactérie peut proliférer et se recycler dans les écosystèmes aquatiques. Les bactéries et les toxines peuvent ainsi se retrouver éventuellement dans les milieux marins ou d'autres milieux aquatiques non souhaitées. Toutefois, la littérature sur ce sujet est presque inexistante.

Comme mentionné dans les sections précédentes, chaque environnement possède ses particularités, ce qui peut faire varier les effets du *Bti*. C'est pourquoi des données locales sont nécessaires.

13. Résistance au *Bti*

Le développement de la résistance de populations d'insectes aux insecticides synthétiques et biologiques est une grande menace envers une utilisation efficace de ces produits pour le contrôle des vecteurs de maladies et des ravageurs. Ces résistances engendrent l'utilisation de doses de plus en plus fortes pour obtenir le même rendement, jusqu'à ne plus être efficace ou en rendant les risques environnementaux trop élevés.

13.1. INFORMATIONS DISPONIBLES DANS LA LITTÉRATURE

La résistance, même à des niveaux élevés, aux différentes formes de *Bt*, autre que le *Bti*, a été observée pour différents ordres d'insectes⁴⁴⁰. La toxicité de *Bti* dépend surtout des quatre principales toxines (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa et Cyt1Aa) produites lors de la sporulation³¹ et le développement de la résistance nécessiterait de multiples mutations simultanément⁴⁴¹. Tabashnik (1994)⁴⁴² mentionne dans sa revue de littérature que la résistance de 2 à 16x au *Bti* a été observée. Ferré et van Rie (2002)⁴⁴³ décrivent trois modes d'action pour la résistance au *Bt* : la transformation protéolytique des prototoxines de *Bt*, la régénération de l'épithélium de l'intestin et la modification du site de liaison du Cry protéine. Rey *et al.* (1998)²²⁷ attribuent la moindre innocuité du *Bti* sur le cladocère *Simocephalus vetulus* (Cladocera : Daphniidae) au manque de cellules vulnérables à l'insecticide dans l'épithélium de leur intestin ainsi qu'à la rapidité de renouvellement de cet épithélium. Les changements histopathologiques similaires à ceux observés chez les diptères étaient maximaux après 16 h²²⁷. Cependant, 24 h après l'exposition au *Bti* les cellules atteintes ont commencé à se rétablir et par la suite, elles semblaient de nouveau normales²²⁷. Dans certaines revues de littérature récentes (2015-16)^{444,445} une résistance au *Bti* a été observée chez des Culicidés dans la nature. Cette observation est probablement reliée à un mécanisme de détoxification par les Glutathione S-transferases⁴⁴⁵.

Becker et Ludwig (1993)⁴⁴⁶; employées du KABS) n'ont pas observé de développement de résistance au *Bti* chez des larves d'*Aedes vexans* dans des sites ou des épandages dans la vallée du Rhin ont été effectués pendant plus de 10 ans comparés avec des sites où il n'y a jamais eu d'épandages. Becker *et al.* (2018)⁴⁴⁷ mentionnent qu'il n'y a pas de résistance après des épandages de *Bti* pendant 36 ans.

Dans la région du Rhône-Alpes, en France, le *Bti* est utilisé depuis 1990 afin de contrôler les populations de moustiques. Boyer et al. (2012)⁴⁴⁸ rapportent que des larves d'*Aedes rusticus* situées sur des sites traités au *Bti* ont une mortalité significativement inférieure à celle de populations sur des sites qui n'ont pas été traités⁴⁴⁸. La valeur moyenne de CL₅₀ pour des larves des sites traitées est 0.460 mg/l et pour des sites non traités 0.252 mg/l⁴⁴⁸ (ceci correspond à 4 600 et 2 550 ITU/l, respectivement (voir annexe 1)). Il y a donc développement d'une résistance au *Bti*⁴⁴⁸. Boyer et al. (2007)⁴⁴⁹ ont observé que les populations naturelles de larves de moustiques, qui ont été les moins exposées dans le passé au *Bti* et à l'organophosphoré téméphos, étaient les plus sensibles à ces pesticides tel que reflété par la plus forte activité d'enzymes de détoxification Cytochrome P450 monooxygénases, glutathion-S-transférases (GSTs), ainsi que des estérases. Ces enzymes pourraient être impliqués dans le développement de la résistance à ces pesticides⁴⁴⁹.

Paris et al. (2010)⁴⁵⁰ ont observé une sélection positive dans certaines régions du génome comme première étape vers la résistance dans des populations naturelles de moustiques au *Bti* dans la région du Rhône-Alpes.

Deprés et al. (2011)⁴⁴ et Paris et al. (2011)⁴⁵¹ mentionnent que la résistance aux différentes toxines Cry de *Bti* se développe rapidement en laboratoire chez des moustiques, mais pas avec l'addition de Cyt1Aa. Le développement de la résistance à différentes toxines Cry pourrait être le début du processus de développement de la résistance au complexe de toxines de *Bti*⁴⁵¹. Toutefois, Il n'y a pas eu de développement de résistance dans la nature ou en laboratoire contre les toxines des cristaux de *Bti*^{44,451}. Paris et al. (2012)⁴⁵², Tetreau (2012)⁴⁶ et Tetreau et al. (2018)⁴³⁹ ont observé différents niveaux de tolérance au *Bti* au sein d'une population de larves de moustique d'*Ae. aegyptii* élevées en laboratoire et ils suggèrent que les hôtes contrôlent de manière active l'infection avec *Bti*. Després et al. (2014)⁴⁵³ ont observé, chez des larves d'*Ae. aegyptii* résistantes au *Bti* une augmentation de la transcription de beaucoup de gènes qui codent pour des endopeptidases et peu d'activités pour des gènes encodant des enzymes de détoxification. Par la suite, Bonin et al. (2015)⁴⁴¹ ont identifié des régions dans leur génome potentiellement impliquées dans la résistance au *Bti*. Tetreau et al. (2012)⁴⁵⁴ ont observé chez des larves d'*Ae. aegyptii* moins sensibles au *Bti* une modification de l'expression des phosphatases alcalines, des N-aminopeptidases et des V-ATPases qui se lient aux toxines, ainsi qu'une augmentation de l'activité protéolytique dans des extraits de l'intestin (Tetreau et al. 2013)⁴⁵⁵. Paris et al. (2013)⁴⁵⁶ ont observé une résistance au *Bti* chez des populations naturelles d'*Ae. aegyptii* de la Martinique après seulement 2 années de traitement avec VectoBac WG (3000 UTI/mg; sans spécification des fréquences ou dosages). Or, da

Silva Carvalho *et al.* (2018)⁴⁵⁷ n'ont pas observé le développement de résistance au *Bti* (VectoBac WG; 0.5 mg/l) après 30 générations d'exposition de *Ae. aegyptii* isolé à Recife, Brasil. Ils n'ont pas observé de modifications au niveau des enzymes de détoxification (α - et β -estérases, glutathion-S transférase et oxydases à différentes fonctions) dans des larves de deux générations (F19 et F25), sauf pour une augmentation de β -estérases dans F25⁴⁵⁷.

Les travaux au laboratoire montrent que l'augmentation de la résistance chez *Ae. aegyptii* et *Cx. pipiens* vont de pair avec une réduction de la fécondité chez les femelles ainsi qu'augmentation du temps de développement des larves^{458,459}. De plus, cette résistance diminue après quelques générations quand les larves ne sont plus exposées au *Bti*^{458,459}.

Dans l'état de New York, Paul *et al.* (2005)¹¹³ ont observé que des larves de *Cx. pipiens* ont développé une forte résistance (34x) au *Bti* près de Syracuse, mais pas à Albany. La valeur de CL₅₀ et de CL₉₅ pour les larves de *Cx. pipiens* de Syracuse sont 11,4 et 157 μ g/l, ou 114 et 1 570 ITU/l, respectivement, et pour celles d'Albany 1,98 et 54,0 μ g/l, ou 19,8 et 540 ITU/l, respectivement¹¹³ (voir annexe 1). Vu cette différence de résistance, les auteurs concluent qu'il n'y a pas beaucoup de contact entre ces deux populations *Cx. pipiens*¹¹³. La différence entre les CL₅₀ observées pour *Ae. rusticus* et *Cx. pipiens* reflète les différences entre les espèces.

Silva-Filha (2017)⁴⁶⁰ rapporte qu'il n'y a pas d'indice apparent de résistance pour les différentes espèces de moustiques dans la nature et qu'il manque des données sur la sensibilité des populations de moustiques, avant le début d'épandage de *Bti*, étudié par Paul *et al.* (2005)¹¹³. Par contre, elle n'a pas inclus les articles^{444,445} et⁴⁴⁸ dans sa revue de littérature. Bortoli et Jurat-Fuentes (2019)⁴⁶¹ mentionnent qu'en principe la résistance aux multiples toxines de *Bti* pourrait se développer, mais est rare, et pour l'instant limitée aux travaux de laboratoire. Brühl *et al.* (2020)⁴⁰ concluent que le développement d'une résistance significative chez des populations de moustiques dans la nature est improbable, mais qu'un suivi est important.

Boyer *et al.* (2006)¹⁴⁷ ont observé que l'herbicide atrazine augmente la résistance des larves de 4^e stade du moustique *Aedes aegypti* au *Bti* (voir section 3).

Le développement de résistance au *Ls* est un des principaux problèmes pour l'usage de ce larvicide (Lacey 2007)³¹. Santos *et al.* (2019)⁴⁶² et différentes publications citées par⁴⁶², mentionnent que la résistance au *Ls* est le résultat de quatre mutations sur des allèles des gènes *cqm1/cpm1* chez *Cx. quinquefasciatus*/*Cx. pipiens* au Brésil ou *Cx. quinquefasciatus* est un vecteur pour *Wuchereria bancrofti* (un vers parasitique).

De plus, la résistance peut être présente chez des populations de *Cx. quinquefasciatus* qui n'ont jamais été exposés au *Ls*⁴⁶². L'utilisation d'un larvicide combinant *Ls-Bti* a réduit la fréquence des allèles qui causent la résistance au *Ls*⁴⁶².

En plus des mécanismes décrits ci-haut, il y a des changements comportementaux chez des populations de moustiques suite aux applications répétitives d'insecticides ou à l'installation des moustiquaires, qui peuvent ressembler à une forme de résistance comportementale. Carrasco *et al.* (2019)⁴⁶³ présentent dans leur revue de littérature entre autres, que l'activité nocturne puisse se déplacer vers la soirée ou le matin, avec un changement de préférences des hôtes.

13.1. CONCLUSIONS

La littérature consultée montre des résultats contradictoires sur le développement de résistance au *Bti*. La présence de multiples toxines semble ralentir le développement de résistance au *Bti* chez des moustiques. Considérant la facilité qu'ont les insectes à développer une résistance aux insecticides en général, il faut s'attendre à ce que cette résistance puisse éventuellement se développer. De plus, étant donné l'augmentation du risque de développement d'une résistance lorsque le *Bti* est combiné à l'atrazine, il ne faut pas exclure que les tests en laboratoire soient trop ciblés pour mettre en évidence les multiples interactions avec les autres contaminants présents en milieux naturels. Davantage d'études sont nécessaires pour évaluer ces interactions et les risques de développement d'une résistance.

14. Méthodes alternatives pour le contrôle des insectes piqueurs

Comme mentionné dans l'introduction (section 1) l'inaction ou la non-intervention n'est généralement pas considérée comme option par les élues municipales quand la population réclame des actions pour le contrôle des insectes piqueurs afin de réduire leur nuisance¹⁵. Or, l'éducation de la population sur l'importance de la biodiversité et les rôles des différents organismes des milieux humides et hydriques, ainsi que le déclin de la biomasse et abondance des insectes au niveau mondial et les oiseaux insectivores aériens, pourrait augmenter l'acceptabilité sociale des nuisances causées par les moustiques et les similies. Une meilleure connaissance des méthodes alternatives pourrait aussi contribuer à réduire les interventions dans ces écosystèmes. Il existe plusieurs méthodes alternatives aux épandages de *Bti*

(Benelli et al. 2016⁴⁶⁴; figure 4). Certaines de ces méthodes sont connues depuis longtemps, tandis que d'autres ont été développées au cours des dernières années. Toutefois, il y a encore peu de données quant à leur impact sur les écosystèmes. Une brève description d'une sélection de ces méthodes est exposée dans la présente section.

Un des principes à la base de la gestion intégrée est l'application rationnelle d'une combinaison des différentes méthodes afin de maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous de seuil acceptable en minimisant les impacts sur les humains et les écosystèmes⁴⁶⁵. Or, dans leur publication récente sur de la mise en œuvre d'un code de bonnes pratiques pour la gestion intégrée du contrôle des moustiques, Martinou et al. (2020⁴⁶⁶; les auteurs sont employés des organismes qui vont le contrôle des moustiques ainsi que le président de l'EMCA) ne mentionnent pas qu'il y a des alternatives à l'utilisation du *Bti* pour réduire les nuisances causées par les insectes piqueurs. Ils⁴⁶⁶ mettent l'accent sur l'importance de bien connaître l'écologie des milieux humides où les épandages sont effectués ainsi que le suivi des impacts sur des espèces non ciblées et de minimiser des impacts environnementaux. Par contre, ils⁴⁶⁶ ne mentionnent pas les impacts potentiels directs ou indirects du contrôle des moustiques sur l'intégrité de l'écosystème et le fonctionnement des réseaux trophiques décrit dans cette revue de littérature. Dans cet article, les expressions « contrôle des moustiques », « contrôle de vecteur de maladie » et « contrôle des nuisances » semblent être utilisées comme synonymes.

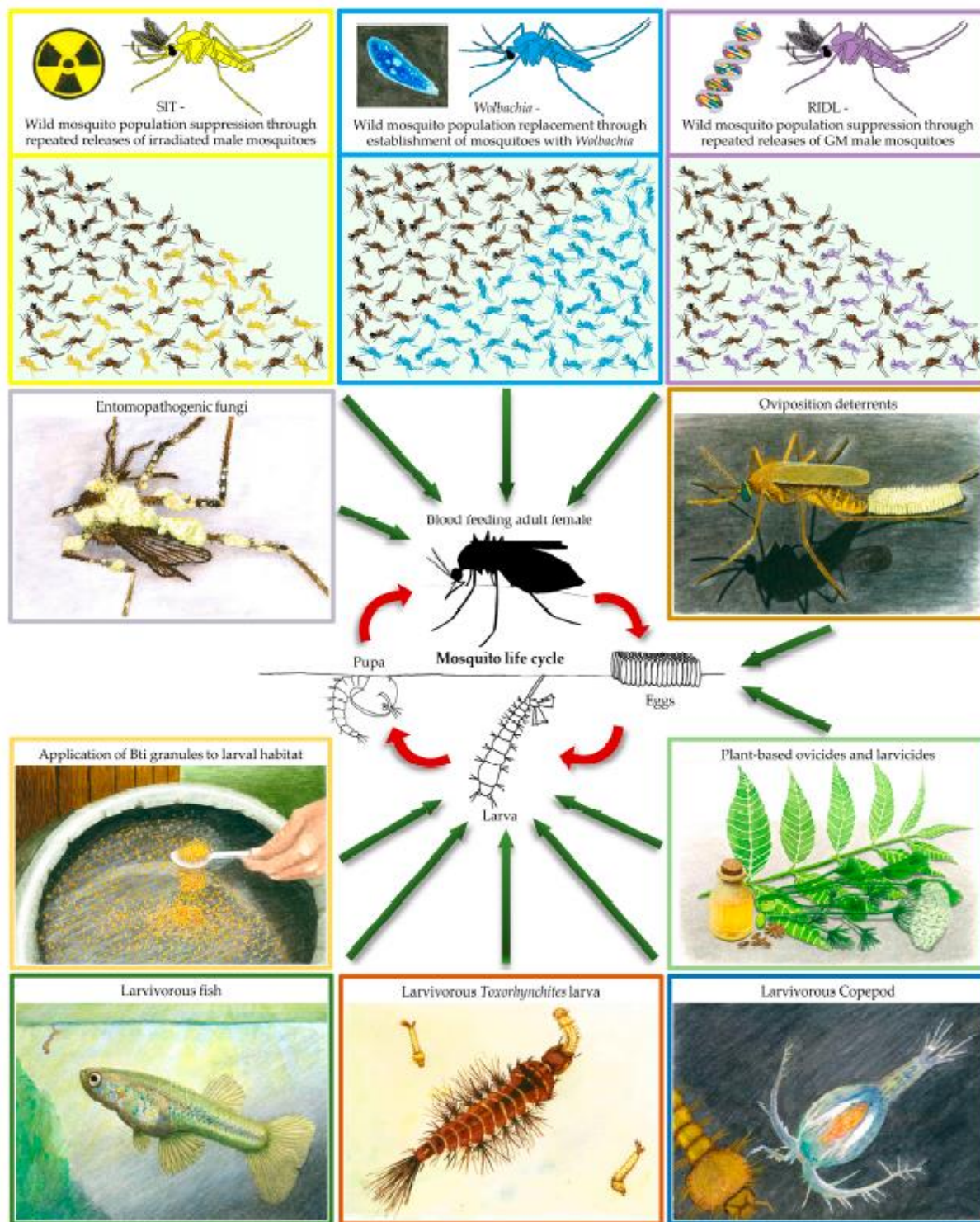


Figure 4. Exemples de contrôle de moustiques avec des moyens biologiques ciblant différents stades du cycle de vie des moustiques (Benelli et al. 2016).

14.1. PIÈGES

Les pièges ont été développés afin de réduire la transmission des maladies telles que la dengue, la malaria, le virus du Nil occidental et plus récemment, le virus Zika. Beaucoup de pièges utilisent de l'électricité (lumière ou aspiration) et/ou du gaz CO₂ (issue des processus industriels, glace sèche ou de la combustion du propane/butane) et des leurres olfactifs afin d'attirer les insectes. D'autres pièges sont énergétiquement autonomes. Les pièges peuvent être distribués de différentes manières sur le terrain afin d'obtenir le résultat recherché (p. ex. individuel, en barrière ; figure 5). Les pièges ont l'avantage de ne pas être nocifs pour l'environnement et de ne pas affecter directement des espèces non ciblées, car, généralement, ils n'utilisent pas de toxines. Ils sont très sélectifs, notamment en éliminant seulement les femelles des diptères piqueurs. Ils sont déployés localement sur de petites superficies, là où une réduction d'insectes piqueurs est souhaitée. De plus, les larves des moustiques et adultes restent disponibles comme source de nourriture jusqu'à leur capture²⁵⁴. McDermott et Mullens (2017)⁴⁶⁷ présentent une évaluation des pièges lumineux avec aspiration telle que les CDC^{ee} Light Traps qui sont souvent utilisés lors des études entomologiques. Ils indiquent que ces pièges ne capturent pas nécessairement toutes les espèces vectrices de maladies et qu'elles ne sont pas toujours efficaces quand il y a des sources lumineuses aux alentours⁴⁶⁷.

Nous présentons dans cette section quelques exemples de développements récents des pièges et leur efficacité sur le terrain.

^{ee} CDC : Center for Disease Control and Prevention (États-Unis).

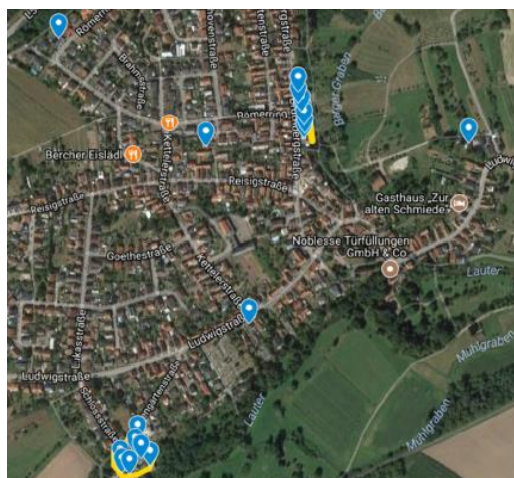


Figure 5. Distribution des pièges à moustiques lors des expériences à Berg (Pfalz, Allemagne) : piège pour maison individuelle, cercle de pièges et barrière de pièges (Allgeier 2019²⁵⁴ et Brühl *et al.* 2019¹²⁹).

In2Care

In2Care (Wageningen, Pays-Bas) a développé un piège pour le contrôle de la transmission des maladies par les moustiques (p. ex. *Ae. aegyptii* et *Ae. albopictus*)⁴⁶⁸. Ces pièges attirent et exploitent le comportement des moustiques, tuent les larves et les adultes. Ils ont seulement besoin d'une intervention aux 4 à 6 semaines et n'ont pas besoin d'électricité ou de gaz. La technique ne vise pas à tuer les moustiques dans les pièges, mais plutôt à éliminer les larves aux sites de reproduction. Ceci se fait par la contamination des femelles qui visitent les pièges avec une très petite quantité de larvicide pyriproxifène (inhibiteur de la croissance des insectes avec écotoxicité élevée) et des spores du champignon entomopathogénique *Beauveria bassiana* (Hypocreales : Cordycipitaceae)^{469,470}. La femelle peut pondre dans le piège et les larves issues de ces œufs y meurent. Le champignon tue l'adulte au bout de quatre à six jours. Condamné à mort par le champignon, l'adulte peut s'échapper, mais ses pattes sont contaminées par le larvicide. Il contamine ensuite les sites favorables aux dépôts d'œufs, tels que de petits contenants avec de l'eau (figure 6). Les larves sont ainsi éliminées dans ces gîtes de reproduction.

Le champignon a une distribution géographique très vaste et est utilisé en lutte biologique, et il provoque la maladie « muscardine blanche » chez divers insectes en se comportant comme un parasite. Les spores germent en contact avec l'hôte et pénètrent dans le corps, tuant finalement l'insecte en l'utilisant comme source de nourriture. Une moisissure blanche se développe sur l'individu contaminé qui véhicule le

champignon lors de ses déplacements jusqu'à sa mort. Les pièges contiennent seulement une petite quantité d'adulticide (le champignon) et de larvicide, qui doivent être renouvelés toutes les 4-6 semaines. Une petite fraction de ces insecticides arrive finalement dans l'environnement et spécifiquement aux sites fréquentés par les moustiques. De cette manière, la possibilité d'affecter des espèces non ciblées est réduite au minimum. La surface couverte par un piège est de 400 m².



Figure 6. Fonctionnement du piège In2Care⁴⁶⁸.

Ces pièges ont reçu une approbation temporaire, par EPA, sur recommandation du Center for Disease Control, pour le contrôle de moustiques (principalement *Ae. aegypti*) dans les états américains aux prises avec le virus du Zika. En 2017, ces pièges ont reçu une homologation conditionnelle par l'EPA et 40 autres pays⁴⁶⁸ (en tant que nouveau produit) pour un usage professionnel. Les pièges ont été testés en Floride par le Manatee County Mosquito Control District (un organisme indépendant du fabricant In2Care) où ils ont décimé les multiples stades des deux principales espèces (*Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*) dans des conditions contrôlées (semi-naturelles)⁴⁷¹.

Par ailleurs, même si on parle ici des pièges homologués pour le contrôle des insectes vecteurs de maladies, il demeure que l'introduction des spores du champignon entomopathogénique *B. bassiana* ainsi que le larvicide pyriproxifène, même à de faibles quantités, ont le potentiel d'affecter des insectes non ciblés qui s'abreuvent dans les petits points d'eau.

Biogents

Biogents (Regensburg, Allemagne) développe des pièges passifs et des pièges qui ont besoin d'un apport de CO₂ ou d'électricité pour fonctionner⁴⁷². Les pièges doivent être installés stratégiquement afin d'assurer un bon contrôle des moustiques (figure 7). Il y a eu plusieurs publications de chercheurs indépendants qui démontrent l'efficacité de ces pièges et les leurres olfactifs^{254,473} ou en collaboration avec l'équipe du fabricant^{474,475}. De plus, ils ont développé un système capable de compter le nombre de moustiques qui sont piégés en distinguant les moustiques d'autres insectes⁴⁷². Degener *et al.* (2019)⁴⁷⁶; plusieurs auteurs sont employés de Biogents) comparent un nouveau modèle de piège plus robuste et pour utilisation long terme avec leurs pièges utilisés depuis une décennie et concluent que l'efficacité est similaire. Un nouveau leurre développé par l'entreprise augmente l'efficacité des pièges Biogents ainsi que de plusieurs pièges d'autres fabricants et ils concluent que leurs pièges sont plus efficaces que les pièges avec CO₂ provenant de la combustion de propane⁴⁷⁶.

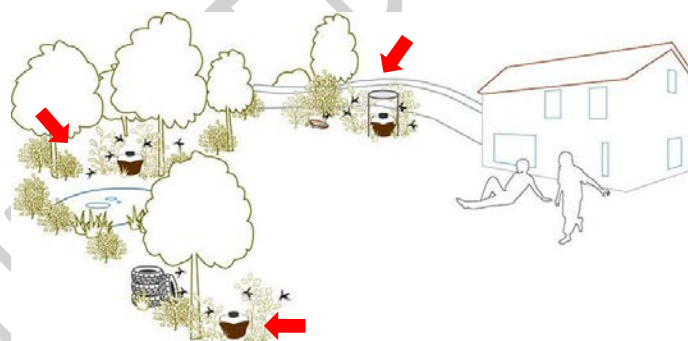


Figure 7. Localisation des pièges pour réussir le contrôle des moustiques⁴⁷².

Allgeier (2019)²⁵⁴ et Brühl *et al.* (2019)¹²⁹, qui présentent les mêmes données, ont utilisé 38 pièges (BG-Mosquitaire CO₂) dans différentes configurations dans la zone urbaine de la municipalité Berg dans la vallée du Rhin (Allemagne) afin de contrôler les nuisances par des moustiques (figure 5). Ils mentionnent que les périodes de canicule et de sécheresse en 2017 et 2018 ont résulté en des densités de moustiques plus faibles que d'habitude. Mais en combinant toutes les données, ils ont quand même observé une réduction significative de 89 % de moustiques qui se posent sur les humains dans les zones protégées par

des pièges^{129,254}. De plus, ils mentionnent que l'efficacité des pièges n'est pas optimale les premières semaines, car ils doivent perdre l'odeur du 'nouveau' produit^{129,254}.

QISTA

Qista (Aix-en-Provence, France) a conçu des bornes/pièges anti-moustiques (BAM) pour les particuliers et pour les collectivités⁴⁷⁷. Le piège attire la femelle moustique en simulant la respiration de l'hôte grâce à du dioxyde de carbone provenant du recyclage de déchets industriels, en faible quantité, et en le combinant à un leurre olfactif (octénol, acide lactique ou autre). Le moustique attiré par le piège est ensuite aspiré par une cheminée et capturé dans un filet à l'intérieur de la borne (figure 8)⁴⁷⁷.

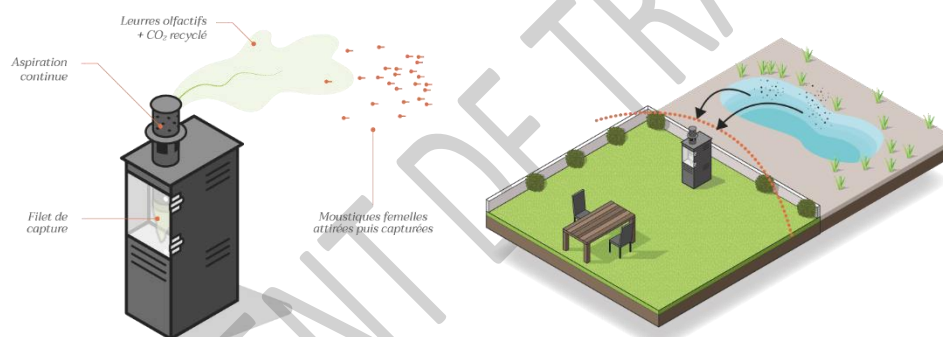


Figure 8. Principe de fonctionnement de la "Borne BAM Evo 2++" de QISTA⁴⁷⁷.

Dans la Camargue, en France, les pièges Techno BAM (QISTA) ont été testés comme alternative à l'épandage de *Bti*⁴⁷⁸. Dans un village, 16 pièges émettant du CO₂ et de l'octénol ont été déployés d'avril à novembre 2016. Les pièges ont un rayon d'action de 60 m. La performance des pièges était estimée à une réduction de 70 %, basée sur le nombre de moustiques qui se posent sur le mollet humain pendant une période donnée dans des zones couvertes par des pièges, comparée à des zones éloignées à plus de 550 m des pièges⁴⁷⁸. La réduction de l'abondance de deux espèces ciblées par les épandages de *Bti*, *Ochlerotatus caspius* (Diptera : Culicidae) et *Oc. detritus*, a été de 74 % et de 98 % respectivement. Les pièges étaient moins efficaces pour *Anophèles hyrcanus* (Diptera : Culicidae), avec 46 % de réduction de l'abondance de ce moustique. Des tests antérieurs ont révélé que cette espèce est plus attirée par l'acide lactique que l'octénol⁴⁷⁸.

L'impact environnemental, basé sur la proportion d'espèces non ciblées capturées, était généralement limité à de petits chironomes, qui sont attirés par des lampadaires. Le succès de reproduction des hirondelles de fenêtres, *Delichon urbicum* n'était pas affecté de manière significative dans des zones avec des pièges, comme c'était le cas avec les épandages de *Bti*⁴⁷⁸. L'efficacité des pièges pourrait s'améliorer en combinant différentes sources olfactives afin de cibler d'autres espèces.

Le rapport final de l'évaluation environnementale de 2015 faite dans la Camargue (section 5.1) et portant sur l'utilisation des pièges, conclut notamment qu'« une approche centrée sur le piégeage des moustiques, comme l'expérimentation menée au hameau du Sambuc en 2015 apparaît comme une solution permettant de mieux concilier réduction de la nuisance et du risque sanitaire (moustique tigre) avec la protection de l'environnement. Davantage en adéquation avec la vocation de développement durable des parcs naturels régionaux, cette option offre également l'avantage d'une plus grande implication et participation de la part des habitants »¹⁷⁷. Ainsi, les effets négatifs sur la faune de l'utilisation des pièges pour contrôler les moustiques localement semblent négligeables comparativement avec ceux observés lors des épandages de *Bti*¹⁷⁷.

Expériences avec des pièges au Québec

Au Québec, quelques expériences de contrôle de moustiques par des pièges ont été faites. Un programme spécial de piégeage intensif a été effectué pendant 6 semaines, faisant partie d'une étude pilote au stade expérimental⁴⁷⁹. Le but de ce programme était de tester l'effet d'une capture prolongée durant plusieurs semaines sur la population de l'espèce *Coquillettidia perturbans* (Diptera : Culicidae) sur le territoire de Châteauguay⁴⁷⁹. L'épandage de *Bti* n'étant pas prévu sur les territoires de Kahnawake et de l'île St-Bernard, ces zones sont devenues des sources de moustiques qui peuvent migrer vers la ville de Châteauguay⁴⁷⁹. Une barrière de 30 pièges lumineux (CDC Light Traps), avec la glace sèche comme source de CO₂ et à une distance de 100 mètres les uns des autres, a été installée, afin d'isoler la ville de Châteauguay de Kahnawake ainsi que l'île St-Bernard⁴⁷⁹. Pendant ce temps, il y a aussi eu un traitement par voies terrestres ou aériennes des milieux humides de la ville⁴⁷⁹. Un total de 1 221 792 moustiques (3,47 kg) ont été capturés par cette chaîne de pièges, et le nombre de moustiques, principalement *C. perturbans*, dans les stations de suivi à l'intérieur de la ville est demeuré faible⁴⁷⁹. L'entreprise considère que ce projet pilote a permis de réduire la période de forte nuisance causée par cette espèce et surtout de diminuer la propagation de celle-ci de Kahnawake vers la ville de Châteauguay⁴⁷⁹.

En 2018, 10 pièges lumineux (CDC Light Traps avec glace sèche) ont été installés par GDG Environnement à la limite de la Baie-aux-Chênes, dans la municipalité de Pointe-à-la-Croix en Gaspésie, afin de contrôler la migration des insectes piqueurs vers les zones habitées pendant la période de juin à août^{288,480}. Il s'agit d'un territoire qui comporte une aire de concentration d'oiseaux aquatiques (ACOA) ainsi qu'un territoire grevé d'une servitude de conservation^{288,480}. Ce traitement s'est révélé efficace contre pour les mouches noires (réduction de presque 100 %)^{288,480}. Par contre, le traitement n'était pas efficace pour les moustiques. Lors des contrôles d'efficacité (cinq minutes à l'aide d'un filet entomologique), plus de moustiques ont été capturés en zone protégée par les pièges qu'à l'extérieur de cette zone^{288,480}. Le nombre de captures de moustiques était toujours plus élevé dans la zone protégée que dans la zone non protégée^{288,480}. Ainsi, la barrière des pièges, qui demande beaucoup d'entretien (p.ex. ajouter tous les jours la glace sèche comme source de CO₂), a seulement capturé près de 10 000 moustiques et n'était pas efficace pour le contrôle de moustiques.^{288,480}

Une autre expérience de piégeage est en cours dans la municipalité de Saint-André-de-Kamouraska, laquelle a démarré un projet pilote de contrôle des moustiques avec l'installation d'une trentaine de pièges électriques à moustiques (Borne antimoustique ou BAM) de la marque Qista⁴⁷⁷ sur son territoire en 2017 (voir aussi Poulin *et al.* 2017⁴⁷⁸). Les coûts d'acquisition des pièges étaient de 50 000 \$ pour une trentaine pièges⁴⁸¹ et les coûts associés à leur entretien et fonctionnement (p. ex. achat CO₂), par la suite, sont estimés à 10 000 \$ par année pour l'ensemble des pièges. Les coûts pour faire l'épandage de *Bti* sont de 100 000 \$ par année (comm. pers. Mme Francine Côté, 7 juin 2018). Au début du mois de septembre 2018, on estimait avoir capturé 1 000 000 moustiques (figure 9)⁴⁸². Il n'y a pas encore eu d'évaluation entomologique détaillée ni d'évaluation sociologique à Saint-André-de-Kamouraska.



Figure 9. Sur la photo on voit la quantité de moustiques capturée en une semaine dans les pièges installés à Saint-André-de-Kamouraska, soit ca. 89 000 moustiques en estimant qu'un millilitre de moustiques correspond à 38 insectes⁴⁸².

14.2. RÉPULSIFS, INSECTIFUGES ET CHASSE-MOUSTIQUE

Parmi les répulsifs efficaces et qui peuvent remplacer l'épandage de *Bti*, pour éviter les piqûres d'insectes (moustiques, similies et tiques) et pour le contrôle des transmissions de maladies par les moustiques, le US Center for Disease Control (CDC 2018)⁴⁸³, Santé Canada (2019)⁴⁸⁴ et la Société canadienne de pédiatrie (2017)⁴⁸⁵ suggèrent entre autres les produits suivants:

- DEET (N,N-Diethyl-meta-toluamide) : développé il y a 60 ans^{ff} et disponible dans plusieurs marques de chasse-moustiques. Les moustiques mâles et femelles détectent le DEET directement et ils sont repoussés par l'odeur⁴⁸⁶.
- Icaridin, icaridine ou picaridine (hydroxyethyl isobutyl piperadine carboxylate)^{gg}, homologué au Canada en 2012, mais peu répandu dans les chasse-moustiques, peut être utilisé pour les enfants à partir de 6 mois (ARLA, 2012)⁴⁸⁷.
- Huile d'eucalyptus citronné (p-Menthane-3,8-diol^{hh} vendu sous le nom commercial Citriodol) est le produit actif dans les insectifuges personnels Citrepele 30 et Natrapel, qui ont été homologués au Canada (ARLA 2014⁴⁸⁸).
- IR3535 (butylacétylaminopropionate d'éthyle) est, une marque enregistrée de Merck KGaA, homologuée au Canada.

^{ff} <https://en.wikipedia.org/wiki/DEET>

^{gg} <https://en.wikipedia.org/wiki/Icaridin>

^{hh} <https://en.wikipedia.org/wiki/P-Menthane-3,8-diol>

- 2-Undecanone (méthyl nonyl cétone ou IBI-246) est homologué au Canada.

Le fonctionnement des trois premiers produits de cette liste est similaire. Ils utilisent le même mécanisme-récepteur d'odeurs des insectes piqueurs^{489,490}.

On pouvait mesurer des concentrations estivales de DEET allant jusqu'à 2,5 µg/l dans l'eau de surface de certains fleuves pendant les années 1990. Du DEET fut même détecté dans la mer du Nord, car le traitement dans les stations d'épuration n'est pas efficace pour éliminer ces contaminants des rejets d'eau usée (Knepper 2004⁴⁹¹ et publications citées par ⁴⁹¹). Avec l'augmentation de l'utilisation de ces répulsifs de moustiques les dernières années, pour des raisons de santé publique, les concentrations des répulsifs dans les plans d'eau pourraient augmenter et éventuellement impacter la faune aquatique (Almeida *et al.* 2018⁴⁹² et publications citées dans ⁴⁹²). Les larves de moustiques n'étaient toutefois pas affectées par les concentrations de DEET ou de picaridine observés dans la nature (98, 980 et 9800 ng/l, 20, 200 et 2000 ng/l, respectivement)⁴⁹². Les larves de la salamandre maculée (*Ambystoma maculatum*; présente au Québec) n'étaient pas impactés par l'exposition de DEET pendant 25 jours aux concentrations mentionnées ci-haut⁴⁹². Par contre, l'exposition de ces larves à la picaridine pendant 25 jours aux concentrations mentionnées résulte en une mortalité entre 45 et 65 %, des malformations de la queue ainsi qu'une réduction de croissance⁴⁹². Cette mortalité se produisait généralement au-delà du 4^e jour d'exposition⁴⁹². Comme les tests de toxicité aiguë sont normalement plus courts que 4 jours, la picaridine serait probablement classée comme non toxique pour cette espèce⁴⁹². Comme les larves de salamandre mangent beaucoup de larves de moustiques⁴⁹², cette hausse de mortalité pourrait augmenter l'abondance de moustiques adultes, par une diminution de prédation⁴⁹².

Récemment, des vêtements faits de tissus imprégnés d'un répulsif basé sur la perméthrine, de la famille des pyréthriinoïdes, ont été développés. Ces tissus lavables offrent une nouvelle forme de protection individuelle contre différents insectes (p.ex. moustiques, mouches, poux, puces, fourmis, cafards, etc.) et les arachnides. Ils ont d'ailleurs été homologués par Santé Canadaⁱⁱ et l'USEPA^{jj}.

ⁱⁱ <https://www.burlingtonfabrics.com/performance-technology/insect-repellency/nfz-canada/>, consulté 13 août 2019.

^{jj} <https://www.burlingtonfabrics.com/performance-technology/insect-repellency/nfz-us/>, consulté 13 août 2019.

14.3. AUTRES FORMES DE CONTRÔLE BIOLOGIQUE

Le contrôle biologique naturel des diptères piqueurs peut être amélioré par la stimulation de l'activité des antagonistes, tels que des prédateurs des larves de moustiques⁴⁹³ ou des compétiteurs pour des ressources qui réduisent la croissance des populations des larves de moustiques²⁹⁰. Il y a d'autres formes de contrôle biologique pour réduire l'abondance des moustiques, tel que l'introduction de manière répétitive des mâles stérilisés par irradiation (cf. le relâchement des mouches à oignon roses en Montérégie) ou des mâles génétiquement modifiés, voire des l'introduction à répétition des moustiques adultes porteurs de maladies ou parasites (figure 4). Cette dernière technique ressemble un peu au fonctionnement des pièges d'In2care, qui fonctionnent à petite échelle. Ces techniques ne sont pas présentées ici, car ils sont plutôt utilisés en derniers recours par la santé publique.

a. Poissons :

Les menés têtes-de-boule ou menés à grosse tête, *Pimephales promelas* (Cypriniformes : Cyprinidae), une espèce commune et répandue dans beaucoup de bassins versants au Québec peuvent être efficaces pour le contrôle des moustiques en mangeant en moyenne 74 larves de *Cx. pipiens* par jour comme le démontrent des expériences en laboratoire⁴⁹⁴. Des sites expérimentaux dans lesquels des têtes-de-boule ont été introduits (1 000 poissons/ha) ne nécessitaient pas d'autres interventions afin de contrôler les moustiques, mais les sites de contrôle (sans poissons) ont eu besoin de 19 traitements avec *Ls* (VectoLex) pendant les 10 semaines de l'expérience⁴⁹⁴. Toutefois, l'impact de la réduction des larves de moustiques sur les menés têtes-de-boule présents naturellement dans ces écosystèmes n'a pas été étudié.

Rockland County, dans l'État de New York, distribue des menés têtes-de-boule à la population pour le contrôle des moustiques afin de les introduire dans des plans d'eau et des étangs, etc., qui ne sont pas connectés à d'autres cours d'eau (dans ce cas, une autorisation n'est pas nécessaire)⁴⁹⁵. Il y a des articles dans des journaux nationaux⁴⁹⁶ et des publicités sur Internet sur l'introduction des menés têtes-de-boule dans des étangs pour le contrôle de moustiques^{497,498}. Cette pratique pourrait avoir un impact local sur l'abondance de moustiques sur les propriétés privées. Toutefois, l'ensemencement de poissons est une pratique écologiquement risquée et réglementée au Québec.

Par ailleurs, afin de contrôler l'abondance de moustiques des gambusies (*Gambusia affinis* et *G. holbrooki*; Cyprinodontiformes : Poeciliidae), qui se nourrissent entre autres des larves de

moustiques, ont été introduits dans des plans d'eau aux États-Unis³⁸⁶. Or, l'introduction de ce poisson vorace et fécond a souvent provoqué des impacts importants sur les populations de poissons indigènes ainsi que les autres organismes aquatiques³⁸⁶. De plus, les populations de poissons indigènes sont souvent plus efficaces pour réduire l'abondance des insectes piqueurs³⁸⁶.

b. Amphibiens :

Les larves de la salamandre maculée (*Ambystoma maculatum*; présent au Québec) sont des prédateurs voraces des larves de moustiques consommant en moyenne ca. 12 larves par heure (Almeida et al. 2018⁴⁹² information supplémentaire). Les grenouilles et les crapauds sont des prédateurs de moustiques adultes. Ils peuvent consommer à peu près 100 moustiques par nuit, par individu⁴⁹⁹. Les têtards se nourrissent des œufs et des larves de moustiques⁴⁹⁹. Les anoues peuvent donc contribuer à réduire la densité de moustiques. Par contre, le prélèvement des œufs d'anoues dans la nature, l'élevage des têtards suivi de leur introduction dans des étangs et des fontaines comme proposées par Sarwar (2015)⁴⁹⁹ sont interdits au Québec et nécessitent un permis délivré par le ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs pour la capture des animaux sauvages à des fins scientifiques, éducatives ou de gestion de la faune (permis SEG⁵⁰⁰).

c. Crustacés

Comme mentionné à la section 6, la présence d'une communauté diversifiée de crustacés peut être un bon atout pour la gestion de la densité de moustiques, car la prédation des larves et la compétition pour la nourriture par des crustacés affectent le nombre et la taille des moustiques qui se métamorphosent²⁹⁰. De plus, les moustiques femelles évitent de pondre dans ces milieux²⁹⁰. La biodiversité est généralement plus élevée dans des écosystèmes intègres.

14.4. DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX PRODUITS BIOLOGIQUES

Il y a plusieurs nouveaux produits biologiques pour éviter les piqures par les moustiques ou contrôler leurs populations. Ces méthodes sont encore au stade expérimental.

Développement de nouveaux ovicides

Benelli (2015)⁵⁰¹ décrit dans sa revue de littérature les produits à base des plantes qui empêchent le développement des moustiques au niveau des oeufs. Il y a plusieurs produits qui démontrent une efficacité de 60 % à 100 %, mais il reste encore beaucoup de travail à faire avant que ces produits puissent être utilisés pour le contrôle de transmission des maladies tel qu'identifier les mécanismes, l'efficacité dans des conditions naturelles, ainsi que les impacts sur les espèces non ciblées⁵⁰¹.

Développement de nouveaux larvicides

L'exposition de quatre stades de larves de moustiques à la méthionine, un acide aminé essentiel pour l'humain, peut résulter en une mortalité similaire à celle observée avec le *Bti* (Weeks et al. 2018⁵⁰²). Les larves de différentes familles de moustiques montrent des différences de sensibilité⁵⁰². La méthionine ne semble pas affecter d'autres insectes comme les abeilles (Weeks et al. 2018⁵⁰³ et références dans ^{502,503}).

Développement de produits qui empêchent les moustiques de piquer

Suite à leur repas sanguin les femelles d'*Ae. aegypti* perdent leur forte attraction vers les humains pendant plusieurs jours. Le mécanisme qui contrôle cette suppression d'attraction est un neuropeptide Y⁵⁰⁴. Duvall et al. (2019)⁵⁰⁴ ont identifié la molécule « NPYLR7 » qui est l'agoniste de cette protéine. Chez des femelles *Ae. Aegypti*, elle induit l'arrêt de recherche de nourriture et le besoin de piquer pendant 2 jours⁵⁰⁴. Ce produit pourrait être ajouté dans des pièges comme celui d'In2Care afin de réduire le risque de transmettre des maladies avant que l'adulte soit tué par le champignon. Toutefois, le niveau d'avancement actuel de la recherche ne permet pas encore une utilisation à l'extérieur des laboratoires⁵⁰⁴.

Empêcher l'éclosion des œufs avec des nano-bio particules

Benelli et al. (2017)⁵⁰⁵ présentent un survol sur des développements récents pour le contrôle biologique des moustiques (à l'exception des techniques basées sur le comportement tel que la manipulation de l'essaimage), incluant la production d'insecticides sous forme de nano-bio particules. Il s'agit de nanoparticules de métal fabriquées par des plantes ou des animaux et qui sont très toxiques pour les œufs, les larves et les adultes de moustiques. Il y a encore peu d'études sur la toxicité aiguë et chronique de ces nanoparticules vertes sur des organismes aquatiques non ciblés, mais, d'après les résultats des

études présentées par Benelli *et al.* (2017⁵⁰⁵, 2018⁵⁰⁶), ces produits semblent empêcher l'éclosion de larves de moustiques des œufs. De plus, elles n'affectent pas les prédateurs de larves de moustiques aux concentrations qui tuent ces larves. En effet, ces nanoparticules d'argent ou d'or semblent augmenter l'efficacité des prédateurs de larves de moustiques pour contrôler les populations de moustiques, mais leurs fonctionnements ne sont pas encore compris⁵⁰⁵. Ce nouveau développement scientifique est en expansion, mais pour l'instant il y a très peu d'information sur leurs autres impacts environnementaux, ainsi que les mécanismes de toxicité sur des espèces ciblées et sur les espèces non ciblées (toxicité aiguë et chronique) ne sont pas encore bien étudiés⁵⁰⁶. Il s'agit d'un développement avec un potentiel intéressant pour le contrôle des moustiques comme vecteur de maladies tels que les arbovirus⁵⁰⁶. La réglementation actuelle n'est probablement pas adaptée pour l'homologation et l'utilisation de ces nanopesticides.

14.5. CONCLUSIONS

Parmi les méthodes de contrôle alternatives au *Bti*, l'utilisation de pièges pourrait s'avérer appropriée pour le Québec, car elles ont démontré leur efficacité ici et ailleurs. Les expériences Chatauguay ainsi qu'à Saint-André-de-Kamouraska ont démontré que de bons résultats peuvent être obtenus. De plus, tel que mentionné, les coûts associés à cette méthode sont intéressants, car ils semblent moins chers que le coût annuel des épandages. Étant donné que ces pièges sont sélectifs aux insectes ciblés, soit les femelles qui piquent, leurs effets directs sur des organismes non ciblés devraient être faibles ou négligeables (e.g. en Camargue, seulement 0,7 % des insectes dans les pièges étaient des espèces non ciblées¹⁷⁷). Ces pièges présentent aussi l'avantage de réduire la gêne causée par les moustiques précisément là où le contrôle est souhaité. Les moustiques peuvent se déplacer sur des distances importantes, allant de 50 m à plus de 50 km⁴. Ainsi, pour être efficace, la démositication doit être réalisée sur de grandes superficies. La mise en place de barrières⁴⁷⁹ ou de pièges dans les zones habitées^{478,473,507} pourrait être plus avantageuse et moins dommageable pour l'intégrité de l'écosystème que de pratiquer l'épandage de *Bti* sur de grandes superficies. L'installation des pièges devrait être planifiée en fonction des endroits stratégiques de reproduction de diptères nuisibles, et ce, afin de limiter leur dispersion. Cette approche évite des impacts collatéraux directs sur des organismes non ciblés et indirects, comme la modification de l'écosystème et du réseau trophique sur les superficies traitées. Toutefois, la performance des pièges doit être suivie dans le temps afin d'adapter cette technique avec l'utilisation des leurres olfactifs pour les espèces de moustiques locales. Par exemple, il faut identifier les variables les plus importantes pour attirer ces

espèces dans les pièges au Québec et étudier comment ces variables interagissent avec l'environnement. L'importance de telles études a déjà été soulignée par McDermott et Mullens (2017)⁴⁶⁷ pour des pièges lumineux.

En plus des pièges, l'utilisation des organismes antagonistes aux diptères nuisibles pourrait être envisagée dans certaines situations. Par exemple, les menés têtes-de-boule pourraient être utilisés dans les étangs isolés, dépendamment de la réglementation applicable (pour cette raison, cette option est plutôt hypothétique au Québec). Des communautés aquatiques riches en crustacés sont aussi importantes pour limiter la croissance populationnelle des diptères dans les milieux humides.

L'utilisation des répulsifs d'insectes piqueurs peut être très efficace pour éviter des piqures. Par contre, certains de ces produits peuvent impacter des organismes aquatiques quand ils se trouvent dans des effluents des stations d'épuration. Finalement, il est souhaitable que les citoyens demandent aux municipalités d'établir des programmes intégrés de gestion des diptères nuisibles, en considérant les méthodes qui comportent le moins de risques directs et indirects pour les écosystèmes. Dans ce cas, une combinaison de toutes les différentes méthodes de contrôle, suite à l'analyse des habitats concernés, pourrait être envisagée. Il est souhaitable qu'un programme intégré de gestion de diptères inclue aussi un suivi régulier des effets directs et indirects des méthodes de lutte utilisées, accompagnés des études d'efficacité et d'impact collatéral à court et long terme. De plus, l'implication de la communauté dans de tels programmes est une externalité positive de cette approche.

15. Études sociologiques portant sur la gouvernance et sur les recours juridiques par des groupes environnementaux : le cas du parc de la Camargue en France et le dossier politisé en Allemagne.

Le contrôle des insectes piqueurs dans le sud de la France commence au début des années 1960, car les moustiques étaient omniprésents dans l'arrière-pays des plages de la Méditerranée, freinant le développement économique de la région. « EID Méditerranée » (Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen) a été créée en 1958 afin de favoriser le développement économique et touristique. La démoustication était fixée comme préalable incontournable à toute démarche d'aménagement de la zone côtière^{508,509}. EID Méditerranée a d'abord utilisé des produits chimiques et par la suite le *Bti*, sauf dans le parc national régional de la Camargue, où la démoustication était interdite (voir section 5.1). Finalement, l'organisme a effectué des traitements aériens avec *Bti* dans

ce parc national régional à partir de 2006, accompagnés d'un suivi environnemental et sociologique par des chercheurs indépendants de l'EID Méditerranée^{189,179}. Parmi les organismes impliqués dans le suivi scientifique, la Tour du Valat, institut de recherche pour la conservation des zones humides méditerranéennes, a proposé faire le suivi du volet 'oiseaux' (passereaux paludicoles et hirondelles des fenêtres), travail coordonné par la chercheuse Brigitte Poulin¹⁸⁴. À l'exception de cette équipe et de l'équipe de sociologie, il n'y a pas eu beaucoup de publications scientifiques sur ces suivis. Dans l'étude de cas (section 5.1), le contexte environnemental du parc de la Camargue a été décrit. Les principaux résultats de l'étude environnementale sont exposés dans les différentes sections sur l'effet du *Bti* sur les organismes non ciblés. Dans la présente section, des aspects sociologiques et de gouvernance sont développés.

Une équipe allemande, sous la direction de Carsten Brühl, a reçu un financement pour la période 2013-2018 pour le développement d'une approche de contrôle de moustiques afin de documenter et de diminuer les impacts écologiques de la démoustication dans les sites pour la conservation de la biodiversité et de l'écosystème dans la vallée du Rhin (voir l'étude de cas, section 5.2)^{129,191,510}.

15.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Les études sociologiques portant sur la gouvernance en lien avec la biodiversité et le contrôle de la nuisance causée par les moustiques sont relativement rares. Guillet et Mermet (2017)¹⁸⁵ présentent un état des connaissances sur la communication des faits scientifiques portant sur la biodiversité. Ils décrivent comment les décideurs s'appuient sur l'implantation d'une étude de cas pour permettre l'épandage dans un écosystème protégé. C'est ainsi que le projet pilote d'épandage de *Bti* dans le parc national régional de la Camargue en France s'est déroulé pendant une période de 5 ans (2006-2011) (voir section 5.1). Ce projet a été élaboré suite aux pressions socioéconomiques provenant majoritairement de l'industrie touristique après une éclosion exceptionnelle de moustiques à l'automne 2005¹⁸⁵.

Ce projet pilote a été accepté par le parc puisqu'il était limité dans le temps et accompagné d'une étude de suivi d'impact environnemental. La Camargue était la seule région sur la côte méditerranéenne française où il n'y avait pas eu de contrôle de moustiques afin de conserver cet écosystème exceptionnel⁵². Les acteurs environnementaux souhaitaient mesurer les impacts du projet sur l'écosystème. L'équipe de biologistes savait d'ores et déjà qu'il serait extrêmement ardu de réaliser un suivi écologique sur le terrain

afin de démontrer les conséquences écologiques du traitement sur le milieu¹⁸⁵. L'étude sociologique de Guillet et Mermet (2017)¹⁸⁵ a conclu que :

- a) Malgré les impacts sur la biodiversité documentés par les biologistes, après seulement trois années³⁷⁸, le traitement au *Bti* a perduré jusqu'à la fin du projet pilote en 2011, ce qui est en contradiction avec les principes de la charte du parc national avant d'autoriser le projet pilote de démoustication¹⁸⁵.
- b) En 2011, les autorités locales et régionales ont décidé de continuer le programme de démoustication et le suivi scientifique sur la majorité du territoire traité pendant le projet pilote. Ils souhaitent confirmer les impacts observés sur la biodiversité, lesquels contredisaient l'état des connaissances de l'époque qui n'attribuait pas d'impact écosystémique aux épandages de *Bti*. Les autorités n'auraient jamais eu la légitimité d'implanter un programme de traitement au *Bti* dans un parc voué à la conservation, sans assurer que le projet serait arrêté en présence d'un impact écologique. Ainsi, la décision de faire un projet pilote de 5 ans était un développement très rationnel et stratégique des décideurs. Après 5 ans de réduction des nuisances par les moustiques, la balance des relations de pouvoir entre les opposants et les défenseurs de traitement par *Bti* devrait avoir changé et les risques politiques pour les décideurs d'implanter le traitement par *Bti* seraient moindres¹⁸⁵.
- c) En 2016, soit après la deuxième période de 5 ans d'épandage de *Bti*, en raison de restrictions budgétaires, les autorités proposaient d'arrêter le traitement, car le coût par personne était trop élevé (1M€/an pour 9000 habitants). À ce moment, la pression populaire poussa les autorités à trouver le financement pour poursuivre la démoustification¹⁸⁵.
- d) En 2016, les personnes interrogées dans l'étude de Guillet et Mermet¹⁸⁵ ont présenté des positions opposées :
 - i. Selon les représentants du gouvernement régional, il n'y a pas de preuves scientifiques claires sur l'impact sur le réseau trophique et le fonctionnement de l'écosystème.
 - ii. Selon les biologistes, le projet pilote a démontré l'impact sur le réseau trophique et le fonctionnement de l'écosystème.
 - iii. Selon les représentants du promoteur-opérateur du programme de contrôle de moustiques (EID Méditerranée), les impacts sont seulement marginaux. Ils affirment qu'« il y a plein d'études sur l'utilisation de *Bti*. Les résultats sont très controversés. Le *Bti* a été approuvé et présente les plus faibles impacts de tous les produits disponibles sur le

marché. Mais j'ai aussi entendu que le *Bti* pourrait avoir plus d'impacts que les produits utilisés dans le passé. »

Une part des parties prenantes ne considère pas les faits scientifiques comme preuves tant qu'ils ne sont pas prêts à adopter eux-mêmes des changements comportementaux, et tant qu'ils n'ont pas encore pris de décision basée sur les preuves : la décision prise à partir des preuves scientifiques ne précède pas la prise de position sur la solution à adopter, c'est un processus simultané¹⁸⁵.

- e) Après la première ronde de prises de décisions au niveau politique et de recherche scientifique (2005-2011), les travaux des chercheurs sur la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème n'ont pas été en mesure d'influencer les décisions. Par contre, les travaux réalisés entre 2011 et 2016 montrent de nouveaux développements qui permettent de mieux comprendre l'interface entre la science et la politique¹⁸⁵.
- f) L'équipe scientifique ayant fait le suivi écologique a développé des techniques alternatives à l'épandage de *Bti*. Ils ont commencé à tester des pièges à moustiques à partir de 2013 autour de leur laboratoire. L'objectif était de développer des pièges, procurant un confort aux citoyens, comparables à l'usage du *Bti* et ayant peu ou pas d'impact sur les espèces non ciblées. Un autre objectif était de créer une zone de confort locale, là où se trouvent les humains, et ceci sans affecter le fonctionnement de l'écosystème sur de grandes superficies. Certains décideurs et entrepreneurs locaux ont appuyé ce développement. En 2015, le premier test grandeur nature avec des pièges était effectué dans un petit village dans le centre de la Camargue. La population locale était satisfaite des résultats jusqu'en septembre quand des vents favorables transportèrent une éruption importante de moustiques au village. Les habitants se demandaient si les pièges attiraient les moustiques au lieu de créer une barrière. Un deuxième test, conduit en 2016, avec plus de pièges et aussi mieux distribué sur le territoire, était concluant et a convaincu les habitants. Ainsi, l'équipe scientifique a utilisé l'innovation technique pour entraîner un changement de nature social, environnemental et technique en plus de l'accumulation de preuves écologiques¹⁸⁵.
- g) Dans la Camargue, le changement de gouvernance ne s'est pas mis en place. Cette étape nécessite la continuation et la consolidation du réseau avec des interlocuteurs à différents niveaux gouvernementaux. L'entreprise qui fournit les pièges doit aussi poursuivre l'amélioration du produit et la réduction des coûts. De plus, cette proposition sera mieux acceptée quand les données écologiques permettront de démontrer que les espèces non

ciblées sont épargnées par les pièges (seulement 0,7 % des insectes dans les pièges étaient des espèces non ciblées¹⁷⁷). L'organisme impliqué dans l'épandage de *Bti* dans la Camargue (EID Méditerranée) a l'habitude de s'adapter à l'évolution des nouvelles techniques et législations mises en place au cours des soixante dernières années dans le sud de la France¹⁸⁵.

- h) Simultanément au développement de pièges, les suivis écologiques ont continué pendant la période de 2011 à 2016. Les impacts de l'utilisation de *Bti* ont été confirmés. De plus, les études de longue durée sont importantes pour mieux comprendre ces impacts. Aussi, ils améliorent les réseaux sociotechniques entre les différents partenaires et ceux qui militent pour une meilleure prise en compte de la biodiversité dans les décisions politiques prises au sein des différents niveaux gouvernementaux¹⁸⁵.
- i) Les travaux sur la biodiversité dans la Camargue ont ouvert le débat académique sur le contrôle des moustiques dans des zones vouées à la conservation de la biodiversité. Les données écologiques sont présentées au sein des communautés scientifiques impliquées dans la démoustication et dans les congrès axés sur la biodiversité. Démontrer l'impact de l'épandage du *Bti* dans la Camargue pourrait mener à un changement de gouvernance. Les différents organismes gouvernementaux impliqués dans la démoustication du sud de la France se questionnent désormais sur les impacts de l'épandage de *Bti*, et d'autres insecticides, à grande échelle et sur de longues périodes¹⁸⁵.
- j) Cette étude¹⁸⁵ montre que les preuves de l'impact du *Bti* sur l'écosystème deviennent suffisantes seulement lorsque les changements concrets sont mis en place, par exemple, des alternatives pour le contrôle de la nuisance par les moustiques sont considérées une solution satisfaisante par la majorité des partenaires. En d'autres mots, des preuves fournies par la communauté scientifique deviennent incontournables seulement quand les décideurs reconnaissent et acceptent que leurs positions et décisions iront dans le sens de ces preuves¹⁸⁵. La décision prise à partir des preuves scientifiques ne précède pas la prise de position sur la solution à adopter, c'est un processus simultané¹⁸⁵.

Dans une publication antérieure sur le même sujet par les mêmes auteurs, Guillet et Mermet (2013)¹⁸⁴ présentent plusieurs facettes plus en détail et ils discutent entre autres que l'expertise instituée par l'appareil politico-administratif peut l'aider à faire fi d'engagements écologiques pourtant pris par les politiques eux-mêmes¹⁸⁴.

De temps à autre, des associations environnementales remettent en cause la démoustication, instrumentant des éléments écologiques ou juridiques, s'en prenant, par exemple, aux arrêtés préfectoraux au titre desquels l'opérateur 'EID Méditerranée' effectue ses interventions⁵¹¹. Ces initiatives hostiles sont souvent déboutées en cours. Ainsi, un jugement du tribunal administratif de Marseille, en date du 6 octobre 2014, a rejeté la requête de trois associations qui contestaient l'arrêté du préfet des Bouches-du-Rhône pour la campagne de démoustication de 2012 sur la base des conclusions de Poulin *et al.* (2010)³⁷⁸. Ce jugement⁵¹¹ a débouté ces groupes en précisant qu'« au regard des travaux scientifiques disponibles en France et à l'étranger, il apparaît difficile de conclure à une atteinte significative de ces activités de démoustication sur l'état de conservation des sites »⁵¹¹.

Allgeier (2019)²⁵⁴ et Brühl *et al.* (2019)¹²⁹, qui présentent les mêmes données, ont fait une étude socioéconomique dans les plaines inondables de la vallée du Rhin. Ils mentionnent que les citoyens sont généralement en faveur des programmes de contrôle de moustiques (même dans les zones protégées pour la biodiversité), car ils ont eu depuis longtemps l'information que le *Bti* est très sélectif et qu'il n'y a pas d'impact sur les organismes non ciblés. Ils ont observé que la population ne souhaitait pas modifier les programmes existants, puisqu'elle désirait que le contrôle de moustiques se poursuive^{254,129}. Près de 50 % des personnes se sentent 'gênées' à 'très gênées' par la présence des moustiques et 90 % des personnes prennent des mesures afin d'éviter de se faire piquer, tels que des répulsifs, des vêtements longs, éviter certains milieux, rentrer au crépuscule ou installer des moustiquaires^{254,129}. Aussi, 69 % de la population craint des maladies potentielles qui peuvent être transmises par des moustiques, même si elles ne sont pas présentes dans la région^{254,129}. Plus de 40 % des répondants n'étaient pas au courant que leur municipalité paye pour le programme de contrôle de moustiques. Près de 90 % de la population se dit en faveur des techniques alternatives pour le contrôle de moustiques, tel que des pièges^{254,129}.

Le contrôle des moustiques est devenu très politisé en Allemagne, où des représentants politiques de tous les niveaux se sont demandé si des études d'impact des épandages de *Bti* sur des espèces non ciblées et l'écosystème étaient indispensables et ont demandé d'arrêter le financement de ces travaux¹²⁹. Ainsi Brühl *et al.* (2019)¹²⁹ concluent qu'il n'est pas possible d'effectuer des études d'impact des épandages de *Bti* sur des espèces non ciblées et le fonctionnement de l'écosystème sans support des autorités politiques, car depuis des décennies on présente le produit comme extrêmement spécifique et sans impact sur l'environnement¹²⁹. Aussi, ils ont observé que les personnes reliées à l'industrie de contrôle de moustiques par le *Bti* ont dérangé à plusieurs reprises le déroulement des rencontres publiques, des ateliers scientifiques ainsi que d'autres activités dans le cadre de ce projet de recherche¹²⁹.

L'éducation de la population sur l'importance des services écologiques fournis par les milieux humides et aquatiques, de la biodiversité et les rôles exercés par les différents organismes que recèlent ces milieux, pourrait accroître l'acceptabilité sociale des nuisances causées par des insectes, incluant les moustiques et les simules. De plus, ces personnes ne sont généralement pas au courant des modifications des écosystèmes observées tel que les déclin de la biomasse et abondance des insectes au niveau mondial ainsi que celui des oiseaux insectivores aériens.

15.2. CONCLUSIONS

Il y a peu d'études sociologiques sur le contrôle des insectes piqueurs. Des méthodes alternatives et efficaces de démoustication doivent démontrer leur efficacité et être considérées pour entraîner une modification des pratiques. Ceci est fondamental en présence d'enjeux de santé publique (tels que la transmission du virus du Nil occidental et du virus Zika), et d'enjeux de nuisance pour les communautés. De plus, l'expérience en Camargue montre qu'il est très difficile d'arrêter la démoustication une fois qu'elle est lancée, même lorsque sa réalisation pose des problèmes environnementaux, financiers et sociétaux.

16. Études économiques

Il y a très peu d'études sur les aspects économiques en lien avec les nuisances par les insectes piqueurs.

16.1. INFORMATION DISPONIBLE DANS LA LITTÉRATURE

Les pertes économiques dues à des nuisances causées par des simules peuvent considérables, mais elles sont rarement documentées¹¹. Sariözkan *et al.* (2014)⁵¹² ont estimé les pertes des revenus de l'industrie du tourisme et de l'agriculture, en plus des coûts pour contrôler les mouches noires en 2006-2007 dans la région Cappadoce, Turquie, à US\$ 5,45 millions. Ceci est une valeur conservatrice, car plusieurs pertes n'ont pas pu être évaluées lors de ces travaux⁵¹².

Halasa *et al.* (2014)⁵¹³ ont essayé de quantifier l'impact des nuisances causées par les moustiques sur la qualité de vie des résidents de deux comtés du New Jersey, avec des programmes de contrôle des moustiques. La présence des moustiques est considérée par la majorité des répondants (54,6 %) comme une nuisance lors d'activités à l'extérieur. Les résidents considèrent que la présence des moustiques diminue leur qualité de vie avec une valeur de 0,13, résultant en une valeur d'utilité $0,87 \pm 0,03$ sur

l'échelle descriptive de santé EuroQol-STO (1 étant le maximum et 0 le minimum). Dans cet outil, la valeur 0,13 correspond par exemple à vivre avec des facteurs de risque pour développer des maladies inquiétantes⁵¹³. Ainsi, les auteurs concluent que les nuisances par les moustiques pourraient être comparées à un risque réel pour la santé des résidents⁵¹³. Or, dans cette étude, les auteurs n'ont pas comparé des populations qui vivent dans des zones avec et sans contrôle de moustiques. Par ailleurs, une évaluation contingente a révélé que les répondants avaient une volonté de payer de 935 \$US, en moyenne, pour un été sans moustiques à l'extérieur⁵¹³. Shepard *et al.* (2014)⁵¹⁴ ont fait l'évaluation économique de ce programme de contrôle de moustiques et concluent que ce programme apporte 43 h de temps supplémentaire à l'extérieur, par exemple dans le jardin, ce qui correspond à 356 \$US. Il aurait toutefois été intéressant de comparer des populations qui vivent dans des zones avec et sans contrôle de moustiques, mais ça ne fait pas partie de l'étude.

Von Hirsch et Becker (2009)⁵¹⁵; les auteurs sont employés du KABS) ont fait une analyse coûts-bénéfices du programme de contrôle de moustiques utilisant du *Bti* dans les plaines inondables de la vallée du Rhin, en utilisant une évaluation contingente. La volonté de payer par résident était 3,50 € par personne par an. Ceci se traduit pour toute la région concernée en une somme totale 8,4 M€, c.-à-d. 3,8 fois plus élevée que les coûts associés au programme. Ainsi KABS, l'organisme qui effectue les épandages, considère qu'elle contribue en moyenne chaque année de 6 M€ au bien-être social de la région⁵¹⁵.

D'autre part, la volonté de payer d'une population, au Texas, USA, pour un le programme de contrôle de moustiques au moyen de pesticides chimiques, était 1,9 fois plus élevé que les coûts réels pour exercer ce contrôle. De plus, les répondants étaient d'accord pour payer le double pour l'utilisation des produits qui pourraient moins affecter l'écosystème (John *et al.* 1992⁵¹⁶).

Brühl *et al.* (2020)⁵¹⁷ mentionnent dans une revue de littérature que les impacts écologiques sur des espèces non ciblées ont été ignorés dans les analyses économiques.

Allgeier (2019)²⁵⁴ et Brühl *et al.* (2019)¹²⁹ ont fait une étude dans la vallée du Rhin, en Allemagne, et une partie du volet sociologique est présenté dans la section précédente. Pour le volet économique ils ont utilisé l'évaluation contingente qui montre une ouverture pour payer en moyenne 118 €, par ménage/par an, pour l'utilisation des techniques alternatives^{254,129}. Ceci est nettement supérieur à la somme de 3,50 € par personne par an obtenue par Von Hirsch et Becker en 2009⁵¹⁵. Les répondants sont d'accord avec l'usage de techniques alternatives à l'épandage de *Bti* pour diminuer l'impact sur les espèces non ciblées et le fonctionnement de l'écosystème, mais ils ne sont pas encore prêts à éliminer l'épandage,

probablement par crainte d'invasions de moustiques. Ceci montre la nécessité de démontrer l'efficacité des méthodes alternatives^{254,129}. En même temps, déjà 25 % des ménages sont d'accord pour acheter des pièges à moustiques et près de la moitié des ménages payerait plus que 100 € par année^{254,129}. L'alternative de contrôler les moustiques là où ils gênent, au lieu de les éliminer à la source (dans les milieux humides) est perçue positivement, même si ceci implique une augmentation des densités de moustiques à l'extérieure des agglomérations municipales^{254,129}.

Les milieux humides permettent de mieux contrôler les niveaux d'eau lors des crues et réduisent les risques d'inondations pour cette raison les gouvernements aménagent et restaurent ces milieux humides. Ces projets d'aménagement ou de restauration sont généralement bien perçus par la population qui habite à proximité, quand les programmes de contrôle des insectes piqueurs sont mis en place lors de la période de planification des projets (Westerberg *et al.* 2010⁵¹⁸). Afin de ne pas affecter le potentiel des services écologiques reliés à ces milieux humides, il apparaît important d'implanter des programmes de gestion intégrée des insectes piqueurs privilégiant des moyens autres que l'épandage de *Bti*, car ces milieux humides procurent des services écologiques d'une grande valeur pour la société (Dupras *et al.* 2015⁵¹⁹; He *et al.* 2016⁵²⁰), y compris la conservation et la mise en valeur de la biodiversité, et augmente le potentiel faunique dont bénéficient les chasseurs, les pêcheurs et les piégeurs.

16.2. CONCLUSIONS

Les aspects économiques en lien avec les nuisances par les insectes piqueurs n'ont presque pas été étudiés. Les coûts des programmes d'épandage de *Bti* sont, au Québec, généralement ajoutés à la taxe foncière par les municipalités. Ainsi, les citoyens savent qu'ils payent pour le service, mais ils ne savent pas combien le traitement coûte à la société. De plus, les études économiques publiées sur le sujet n'incluent pas les externalités négatives sur les écosystèmes et les services écosystémiques, incluant les pertes des services écologiques rendus par la diminution de la biodiversité et la fragilisation de la résilience ainsi que le fonctionnement des écosystèmes et réseaux trophiques. Afin de choisir la meilleure avenue pour le contrôle des insectes piqueurs, il importe de faire des analyses économiques sur les coûts et les bénéfices réels, en incluant notamment les services écologiques et les externalités reliées aux programmes de contrôle de moustiques générées par des méthodes alternatives et par l'utilisation de *Bti*.

17. Lacunes identifiées dans la littérature scientifique et recommandations pour la situation au Québec

La grande majorité de la littérature disponible avant 2012 traitait de l'efficacité du *Bti* pour le contrôle des insectes piqueurs. La littérature disponible sur les effets du *Bti* sur les organismes non ciblés porte sur des groupes taxonomiques auxquels plusieurs espèces présentes au Québec appartiennent, mais il manque, généralement, des études sur les espèces retrouvées dans la province, sous des conditions et avec les formulations utilisées au Québec. L'objectif de ces travaux était d'orienter l'analyse des dossiers de demande de contrôle des insectes piqueurs en considérant les contre-indications des épandages dans des zones où les populations fauniques non ciblées sont les plus à risque. L'épandage de *Bti* peut représenter un risque, surtout pour certaines espèces désignées menacées ou vulnérables. Dans certains cas, il serait souhaitable d'éviter et de minimiser les épandages de *Bti* dans leurs habitats. Étant donné le manque de données sur les espèces, les écosystèmes québécois et sur les conditions locales, il est souhaitable que des études visant à évaluer l'effet du *Bti* sur la faune, les réseaux trophiques et sur le fonctionnement des écosystèmes québécois soient réalisées. L'usage des formulations du *Bti* (VectoBac®1200L, VectoBac®200G) et de *Ls* (VectoLex) utilisées au Québec, aux taux d'application opérationnelle, serait requis. La grande variation de sensibilité observée dans la littérature pour différentes espèces non ciblées, telles que les chironomidés, devrait être vérifiée pour les espèces québécoises. L'effet de ces formulations sur les insectes non ciblés, tels les chironomes ainsi que les arthropodes prédateurs de diptères, doit être suivi après les épandages. Spécifiquement, des suivis de populations de ces organismes sont pertinents pendant la saison des épandages en tenant compte des différentes variations environnementales, mais aussi à long terme, car les impacts des traitements se manifestent souvent seulement après plusieurs années. Les données ainsi recueillies reflèteraient davantage l'impact cumulatif des épandages de *Bti*. Afin de mieux comprendre le fonctionnement et les transferts d'énergie des réseaux trophiques, des analyses avec des isotopes stables ($\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$) pourraient être intégrées à tous les niveaux trophiques possibles³³⁰. De plus, depuis l'utilisation de différents gènes de *Bt* dans les plantes génétiquement modifiées en agriculture, différents gènes et différentes toxines de *Bt* sont observés dans les eaux de surface des cours d'eau en milieu agricole^{521,522} et dans le Saint-Laurent. Ces gènes et toxines peuvent ainsi affecter des organismes aquatiques^{465,525,526}, alors qu'on les retrouve, par exemple, dans des moules d'eau douce^{302,523,524}.

Il n'y a présentement pas d'études sur l'impact de ces toxines combiné avec le *Bti*. L'utilisation de l'ADN-environnementale pourrait permettre d'associer des toxines spécifiques au *Bti* ou aux autres formes de

Bt potentiellement présentes dans les écosystèmes. Cette revue de littérature reflète que la plupart des publications sur le contrôle des insectes piqueurs traitent de moustiques, vecteurs de maladies ou qui constituent une nuisance. Il y en a relativement peu sur le contrôle de simuliés. Comme le contrôle des mouches noires est fait dans les cours d'eau au lieu des milieux humides avec de l'eau stagnante, il est important d'améliorer les connaissances pour l'ensemble des écosystèmes aquatiques où le produit est susceptible d'être appliqué. Ainsi il importe de connaître l'abondance de *Bti* autant dans les milieux humides que dans les cours d'eau, tant les souches indigènes que les formes allochtones ajoutées lors des épandages. Ces travaux pourraient être faits avec des techniques récentes comme l'analyse de l'ADNe.

Plus spécifiquement :

- En plus de ces suivis sur le terrain, des études de laboratoire devraient être menées sur les arthropodes, surtout des espèces représentatives des chironomes québécois, qui sont à risque d'exposition et qui sont généralement importants dans les réseaux trophiques, ce qui permettrait de fournir de l'information sur la sensibilité de ces organismes aux formulations du *Bti*.
- Des évaluations de l'effet létal et des effets sublétaux et chroniques seraient fort pertinentes pour documenter les effets des épandages au Québec. Ces évaluations devraient étudier la reproduction pendant plusieurs générations, les comportements individuels des arthropodes non ciblés, mais aussi l'évolution démographique des populations et des communautés. Tous les stades de développement des organismes devraient être représentés dans ces recherches.
- Le comportement du *Bti* dans les écosystèmes humides et hydriques doit également être considéré en fonction des conditions locales, telles que l'effet de la température de l'eau sur son efficacité pour des espèces ciblées ainsi que pour des espèces non ciblées. Une grande partie de ce type d'études a l'avantage d'être réalisable dans une courte période de temps. La synergie du *Bti* avec d'autres composés toxiques, tels que les pesticides et contaminants émergents présents dans les milieux humides et hydriques, doit aussi être examinée.
- Afin de s'assurer d'évaluer l'impact de l'application de *Bti* sur des insectes émergents tels que des chironomes, il est important d'utiliser des pièges émergents pendant longtemps et ne pas seulement se fier à des données ponctuelles d'émergence quelques jours après l'épandage ou des abondances de ces insectes aériens ou des larves aquatiques²³⁰. De plus, l'échantillonnage aquatique ou la récolte des larves à partir des sédiments ne donne pas toujours les meilleurs résultats²³⁰.

Les oiseaux insectivores sont un groupe à risque de subir les effets indirects de l'application du *Bti*, car plusieurs insectes faisant partie de leurs diètes pourraient être affectés par les épandages tant une seule fois que de manières répétitives. Dans ce contexte, la corrélation entre la diversité et l'abondance des oiseaux, particulièrement parmi les groupes de sauvagine et des insectivores aériens, et les épandages de *Bti* doivent être examinés. La réduction des insectes émergents pourrait affecter directement les oisillons des insectivores aériens et des canards barboteurs, causant potentiellement un déclin local de leurs populations. En plus de cette réduction des insectes émergents, le contact avec les composantes de la formulation de *Bti* peut aussi résulter en des modifications au niveau physiologique, sur le développement, des effets génotoxiques ainsi que des effets épigénétiques. De plus, la réduction de nourriture pourrait aussi affecter la vigilance des oisillons et ainsi augmenter le risque de prédation.

Puisque les chiroptères sont aussi à risque de subir des effets indirects liés aux épandages de *Bti*, la diète des individus des maternités, particulièrement des espèces désignées menacées, vulnérables ou susceptibles d'être désignées et associées aux milieux humides, pourrait être caractérisée, par exemple par l'analyse de l'ADN dans des fientes. Si le remplacement du *Bti* par d'autres méthodes de contrôle d'insectes piqueurs est envisagé, cette information servira aussi à évaluer le risque indirect de ces méthodes alternatives de contrôle. Le suivi des populations de chauves-souris menacées et vulnérables est déjà fait par le ministère. Il y a peut-être une possibilité d'y inclure des sites où les épandages de *Bti* sont faits. Si des données historiques tant sur le contrôle des insectes piqueurs que les populations de chiroptères existent, l'effet de ces épandages sur les chiroptères au Québec pourra être évalué plus précisément.

La physiologie des amphibiens est affectée par l'exposition aux formulations de *Bti*. L'étude des effets chroniques et aigus ainsi que létaux et sublétaux de cet insecticide sur l'état immature des amphibiens associés aux régions touchées par les épandages est souhaitable, notamment sur les espèces menacées ou vulnérables d'anoures et de salamandres. De plus, les effets génotoxiques ainsi que l'effet épigénétique (qui peut s'exprimer dans des générations futures) ne sont pas connus. L'effet de l'exposition chronique du *Bti* sur la reproduction des amphibiens est aussi un aspect qui doit être évalué, car il n'existe pas de publications sur ce sujet. L'effet indirect du *Bti* sur les amphibiens pourrait aussi être examiné, tel l'effet des réductions des populations d'insectes en tant que proies des amphibiens, suite aux épandages. Également, des suivis des populations des amphibiens associés aux régions des épandages sur le terrain sont souhaitables. La synergie du *Bti* avec d'autres composés toxiques présents dans les milieux humides pourrait aussi être examinée, particulièrement avec des pesticides agricoles tels que

l'atrazine auquel les amphibiens sont particulièrement sensibles. Par ailleurs, ce travail pourrait aussi inclure tous les autres groupes d'espèces, voire d'autres formulations de pesticides.

Par ailleurs, des études sur l'effet direct des formulations de *Bti* sur les poissons sont manquantes pour la majorité des espèces sauf, pour quelques salmonidés, pour lesquels des tests de toxicité aigüe ont été réalisés. Des études pourraient être réalisées en considérant l'effet létal, les effets sublétaux, physiologiques et génotoxiques, ainsi que les effets sur la reproduction et sur le comportement. Les synergies des formulations de *Bti* avec d'autres composés toxiques présents dans les milieux humides pourraient aussi être examinées. La proportion des insectes dans la diète des poissons est un aspect qui doit également être élucidé afin d'estimer le risque indirect des épandages sur ces espèces.

En plus des recherches sur l'effet des formulations du *Bti* sur les organismes mentionnés, d'autres populations d'organismes aquatiques devront aussi être suivies. C'est le cas des ostracodes, lesquels pourraient particulièrement être sensibles au VectoBac 12AS. Il est souhaitable que des études en laboratoire sur l'effet létal et les effets sublétaux sur des espèces d'ostracodes locales sélectionnées sur la base de leur importance écologique soient effectuées. Le même principe doit s'appliquer à d'autres organismes aquatiques sur lesquels il n'existe pas d'études à ce jour, par exemple les annélides et les mollusques, notamment les moules d'eau douce. Par ailleurs, dans les tissus de ces moules d'eau douce, qui se nourrissent des organismes benthiques et planctoniques, Douville *et al.* (2009)³⁰² ont observé des toxines et des gènes de *Bt* d'origine agricole. Les interactions entre les crustacés et les moustiques, face aux formulations de *Bti* est un sujet négligé qui mérite d'être examiné davantage.

Les épandages du *Bti* posent un risque pour d'autres composantes de l'écosystème qui pourraient être évaluées, tels que la communauté microbienne, l'abondance de phytoplancton et les cycles biogéochimiques dans les milieux humides.

Le *Bti* peut être recyclé dans l'écosystème et s'accumuler, surtout dans un contexte d'épandages répétitifs. En plus des mécanismes de prolifération et de recyclage déjà connus, tel le rôle des larves de moustiques et chironomes détritivores, la bioencapsulation par un protozoaire, et le lien avec l'abondance de matière organique dans le substrat, il est nécessaire d'étudier le comportement des formulations dans l'environnement afin de prévoir leurs conséquences à long terme, notamment dans les interfaces eau-sédiment après sédimentation dans des champs de phragmites. De plus, il est important de connaître la fraction de la quantité de *Bti* qui est exportée dans les cours d'eau en dehors de zones d'épandage,

sédimente dans des zones de faible courant, et qui peut éventuellement atteindre des lacs et finalement les embouchures des bassins versants dans le Saint Laurent.

Il y a présentement peu de données sur l'efficacité des méthodes alternatives pour le contrôle des insectes piqueurs au Québec, tels que l'utilisation des pièges. Certaines études sont réalisées, mais les résultats ne font pas nécessairement l'objet de publications. La municipalité de Saint-André-de-Kamouraska a fait l'acquisition de pièges en 2017. Il serait intéressant d'évaluer l'efficacité de ces pièges déployés en milieu naturel, impliquant des espèces présentes au Québec. Cette étude pourrait également comporter une étude sociologique et économique, permettant de connaître l'appréciation de la population humaine envers cette méthode.

Bien que l'objectif de cette revue de littérature ne consistait pas à répondre aux enjeux de la santé publique, les insectes piqueurs sont des vecteurs importants de transmission de maladies telles que la malaria, le virus du Nil occidental et le virus Zika. Les changements climatiques pourraient générer l'apparition de certaines maladies au Québec ou encore augmenter leur prépondérance. Pour cette raison, ces projets de recherche pourraient aider à mieux comprendre les effets pouvant découler de l'application du *Bti* afin de favoriser une saine gestion intégrée du contrôle des insectes piqueurs, en considérant notamment les espèces menacées, vulnérables et susceptibles d'être désignées, et en évitant de favoriser la résistance des espèces québécoises au *Bti*.

Finalement, il faut noter que les lacunes scientifiques mentionnées nécessitent des études qui requièrent la participation des équipes de recherche spécialisées et pluridisciplinaires, de ressources considérables, et ceci pour une période de temps importante (5 à 10 ans), surtout dans le cas des suivis des populations des organismes non ciblés. Les études pourraient porter sur les effets des formulations de *Bti* utilisées au Québec en fonction des besoins et des informations nécessaires à la gestion intégrée des insectes piqueurs.

Bien que le présent survol porte sur les risques du *Bti*, il est particulièrement important de définir les besoins de recherche pour estimer les risques associés aux méthodes de contrôle des insectes piqueurs. Plus d'une méthode de contrôle pourrait être utilisée et le choix des méthodes pourraient varier en fonction des caractéristiques des écosystèmes associés (ex. : topographie, la présence de faune vulnérable ou menacée, la densité et la proximité des populations humaines), par exemple. En conséquence, un plan de suivi des risques et des études associés à un tel programme de gestion pourrait

être défini par exemple par l'équipe de chercheurs mentionnée précédemment et adopté le plus rapidement possible.

18. Conclusions générales

Le *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (*Bti*) a été homologué par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada en 1982. À partir de ce moment, cet insecticide a été utilisé au Québec pour contrôler les nuisances occasionnées par les insectes piqueurs (moustiques et mouches noires). Le *Lysinibacillus sphaericus* (*Ls*) a été homologué au Canada en 2005. Toutefois, des données sur les effets des épandages de formulations à base de *Bti* et de *Ls* dans la province sont manquantes.

Au début de leur utilisation, le *Bti* et le *Ls* étaient considérés comme étant des insecticides qui n'avaient pas d'effets néfastes sur l'écosystème. Cependant, des études publiées pendant les 20 dernières années suggèrent qu'il y a potentiellement des effets directs et indirects sur des organismes non ciblés. L'information scientifique disponible au niveau mondial fait référence surtout au *Bti* et démontre que cet insecticide s'accumule suite à des épandages répétitifs et qu'il peut proliférer ou recycler dans l'environnement. De plus, les adjuvants présents dans les formulations commerciales à base de *Bti* peuvent aussi présenter des effets toxiques qu'il ne faut pas négliger. La littérature démontre que les formulations de *Bti* ont des effets potentiels directs et indirects, qui peuvent varier en fonction des conditions du milieu, sur les organismes non ciblés suivants :

- **Chironomes** : le *Bti* peut réduire l'émergence, voire éliminer, ces diptères des milieux humides, causant potentiellement un impact indirect sur d'autres organismes dans l'écosystème, car il s'agit d'insectes qui constituent généralement une proportion importante de la biomasse des insectes émergents au printemps. D'ailleurs, au Québec, la formulation Teknar a eu un effet létal sur des chironomes appartenant à trois genres, *Eukiefferella*, *Polypedilum* et *Phaenopsectra*²⁴⁴.
- **Insectes prédateurs** : Les prédateurs de moustiques, de similies et de chironomes pourront être affectés par une diminution de l'abondance de proies tant dans les écosystèmes terrestres et aquatiques, ce qui peut aussi entraîner un impact sur leurs propres prédateurs (insectes, oiseaux, chiroptères, etc.). Ainsi, on peut observer un effet cascade à travers les réseaux trophiques.
- **Poissons insectivores** : Le dard du sable (*Ammocrypta pellucida*) est une espèce menacée au Québec et en Ontario qui pourrait être affectée indirectement par les épandages de *Bti*. Ce

poisson se nourrit principalement de larves des chironomes et des similies, deux familles d'insectes affectées par les épandages de *Bti*. La diminution du nombre de proies pourrait nuire aux efforts de rétablissement de cette espèce et accélérer son déclin. De plus lors de contrôle des similies dans des cours d'eau, une partie du *Bti* peut être transportée vers les embouchures des rivières, qui sont souvent importantes pour la biodiversité aquatique et où l'on peut aussi trouver le dard du sable.

- **Sauvagine et oiseaux insectivores aériens** : Les canetons se nourrissent d'insectes émergents, principalement de chironomes, pendant la période d'élevage des jeunes canards au Québec. De plus, les oiseaux insectivores aériens, comme les hirondelles, pourraient être impactés par la réduction de leurs proies causée par l'épandage de *Bti*.
- **Chiroptères** : Les femelles chauves-souris sont surtout vulnérables pendant la période de reproduction par une réduction de l'émergence d'insectes au printemps, ceci s'explique par leurs besoins nutritionnels élevés lors de la gestation et la lactation. Au Québec, les chiroptères pourraient être à risque, car les populations de chauves-souris résidentes sont déjà affaiblies par le syndrome du museau blanc et d'autres facteurs liés à leur environnement.
- **Amphibiens** : Des formulations à base de *Bti* ont causé des effets directs sur les stades immatures des anoues en Argentine, en Allemagne, au Missouri, et au Québec. Ces effets sublétaux ont des conséquences au niveau physiologique. De plus, ces produits peuvent aussi avoir des effets indirects, comme ceux observés pour des larves de triton en Allemagne, en raison des modifications dans les réseaux trophiques.
- **Crustacés** : La formulation liquide de *Bti* pourrait poser un risque direct pour les ostracodes, qui peuvent constituer une partie importante du zooplancton. Toutefois, ce risque dépend de la concentration finale de la formulation dans l'eau.

La présence d'autres pesticides dans le milieu aquatique peut amplifier ou diminuer l'impact du *Bti* sur tous les organismes. Ainsi, il a été démontré que l'herbicide atrazine induit le développement de la résistance au *Bti* pour une espèce de culicidé. De plus, les néonicotinoïdes peuvent éliminer des chironomes d'un écosystème. Au Québec, ces pesticides sont omniprésents dans tous les cours d'eau en milieu agricole et dans le fleuve Saint-Laurent.

Dans cette revue de littérature, deux études de cas ont été abordées. Ils correspondent à deux suivis à long terme sur les effets des épandages des formulations à base de *Bti*. Ces deux études de cas montrent

que les effets du *Bti* dans l'environnement ne dépendent pas seulement du contexte environnemental, mais aussi des mesures adoptées pour réduire les risques des effets, telles que la stérilisation de formulations de *Bti* pour éviter son recyclage, des épandages faits en mosaïque dans les zones de moustiques et l'interdiction des épandages dans les zones de reproduction des chironomes.

À la lumière des résultats de l'analyse de l'information scientifique, qui montre qu'il n'y a pas toujours consensus, et par principe de précaution, il est recommandé d'éviter ou de minimiser les épandages surtout dans les habitats essentiels des espèces menacées et vulnérables ainsi que dans les aires naturelles protégées.

La création d'un programme intégré de gestion des insectes piqueurs adapté à des conditions régionales est à privilégier. Un tel programme permettrait d'adapter les méthodes de lutte contre les moustiques et les mouches noires aux caractéristiques du milieu et aux objectifs de la démoustication (diptères femelles nuisibles ou contrôle des vecteurs de maladies). Ce programme devrait aussi inclure un volet de recherche et un suivi dans le temps des populations des diptères, ainsi que des organismes se nourrissant de ces insectes et le fonctionnement des réseaux trophiques de ces écosystèmes.

Il est nécessaire de réviser les seuils d'intervention pour le contrôle des moustiques et mouches noires. Ces seuils d'intervention devraient être en relation avec la santé humaine, les aspects économiques pour les zones affectées, ainsi qu'avec la gêne que ces insectes causent aux humains.

Par ailleurs, l'application du principe de précaution est une exigence légale de la Loi sur le développement durable⁵²⁸, qui prévoit la mise en place de mesures effectives permettant de prévenir des dommages graves ou irréversibles pour l'environnement, et ce, même en l'absence de certitudes scientifiques sur les impacts anticipés de l'utilisation des différents produits antiparasitaires, tant biologiques que chimiques. L'absence de certitude scientifique complète ne doit pas servir de prétexte pour remettre à plus tard l'adoption de mesures visant à conserver et protéger la biodiversité et les écosystèmes⁵²⁸. Le principe de précaution fait d'ailleurs partie des lignes directrices pour la conservation des habitats fauniques (MFFP 2015)⁵²⁷.

Bibliographie

1. Lacoursière, J. O. & Boisvert, J. Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec (document préparé par l'Université du Québec à Trois-Rivières pour le ministère de l'Environnement du Québec). vol. ENV/2004/0 108 <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/bti/index.htm> (2004).
2. Underwood, W. L. The Mosquito Nuisance and How to Deal with it (With stereopticon views and specimens.). *J Mass Assoc Boards Heal.* **13**, 76–94 (1903).
3. Lacey, L. A. & Merritt, D. L. The Safety of Bacterial Microbial Agents Used for Black Fly and Mosquito Control in Aquatic Environments. in *Progress in Biological Control* (eds. Hokkanen, H. M. T. & Hajek, A. E.) 151–168 (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht., 2003). doi:10.1007/978-94-017-1441-9.
4. Verdonschot, P. F. M. & Besse-Lototskaya, A. A. Flight distance of mosquitoes (Culicidae): A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica* **45**, 69–79 (2014).
5. Becker, N. *et al. Mosquitoes and their control (2nd edition)*. (Springer, 2010).
6. Conseil canadien pour la conservation des espèces en péril (CCCEP). Espèces sauvages 2010: La situation générale des espèces au Canada (Wild Species 2010: The General Status of Species in Canada). *Groupe de travail national sur la situation générale* 323 <https://www.wildspecies.ca/fr/accueil> (2011).
7. Börstler, J. *et al.* Host-feeding patterns of mosquito species in Germany. *Parasites and Vectors* **9**, 1–14 (2016).
8. Schönenberger, A. C. *et al.* Host preferences in host-seeking and blood-fed mosquitoes in Switzerland. *Med. Vet. Entomol.* **30**, 39–52 (2016).
9. Maire, A., Bourassa, J. P. & Aubin, A. CARTOGRAPHIE ÉCOLOGIQUE DES MILIEUX A LARVES DE MOUSTIQUES DE LA RÉGION DE TROIS-RIVIÈRES, QUÉBEC. *Doc. Cartogr. Ecol. Grenoble* **XVII**, 49–71 (1976).
10. Bourassa, J.-P. *Le moustique par solidarité écologique*. (Boréal, 2000).
11. Adler, P. H. & McCreddie, J. W. Black Flies (Simuliidae) - Chapter 14. in *Medical and Veterinary Entomology 3rd edition* (eds. Mullen, G. R. & Durden, L. A.) 237–259 (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/b978-0-12-814043-7.00014-5.
12. Savage, J. *et al.* Diptera of Canada (In: Langor DW, Sheffield CS (Eds) The Biota of Canada

- A Biodiversity Assessment. Part 1: The Terrestrial Arthropods.). *Zookeys* **819**, 397–450 (2019).
13. Ministère de l'Environnement et Lutte contre les changements climatiques. Milieux humides. <http://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/rives/milieuxhumides.htm> (2019).
 14. Parcs Canada. Milieux humides : apprenons à aimer nos terrains marécageux - Sciences et conservation. <https://www.pc.gc.ca/fr/nature/science/conservation/zonehumide-wetland> (2019).
 15. GDG Environnement. *Mémoire préparé à l'intention de la Commission de l'agriculture, des pêcheries, de l'énergie et des ressources naturelles. Concernant la consultation générale et les auditions publiques sur les impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement. Assemblée Nationale du Québec* <http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html> (2019).
 16. Hardin, M. R. *et al.* Arthropod pest resurgence: an overview of potential mechanisms. *Crop Prot.* **14**, 3–18 (1995).
 17. Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D. & Desneux, N. Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs. *Annu. Rev. Entomol.* **61**, 43–62 (2016).
 18. Burgess, N. M., Holmes, S. B., Pauli, B. D. & Millikin, R. L. Potential Indirect Impacts of Btk on Insectivorous Birds: Canadian Concerns and Research Response. in *Bacillus thuringiensis Biotechnology and Environmental Benefits* (ed. T-Y Feng et al.) vol. I 505–519 (Hua Shiang Yuan Publishing Co., 1995).
 19. Goldberg, L. & Margalit, J. A Bacterial Spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity Against *Anopheles segentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Mosq. News* **37**, 355–358 (1977).
 20. Margalit, J. & Dean, D. The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) (résumé). *J Am Mosq Control Assoc* vol. 1 1–7 <http://www.refdoc.fr/Detailnotice?cpsidt=9198168&traduire=fr> (1985).
 21. Margalit, J. Discovery of *Bacillus thuringiensis israelensis*. in *Bacterial Control of Mosquitoes & Black Flies* (eds. de Barjac, H. & Sutherland, D. J.) 3–9 (UNWIN HYMAN, 1990).
 22. Argôlo-Filho, R. & Loguercio, L. L. L. *Bacillus thuringiensis* Is an Environmental Pathogen

- and Host-Specificity Has Developed as an Adaptation to Human-Generated Ecological Niches. *Insects* **5**, 62–91 (2014).
23. Martin, P. A. W. & Travers, R. S. Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2437–2442 (1989).
 24. LECADET, M. M. *et al.* Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*. *J. Appl. Microbiol.* **86**, 660–672 (1999).
 25. de Barjac, H., Sutherland, D. J. & (Eds.). *Bacterial Control of Mosquitoes & Black Flies. Biochemistry, Genetics & Applications of Bacillus thuringiensis israelensis and Bacillus sphaericus*. (UNWIN HYMAN London, 1990). doi:10.1007/ 978-94-011-5967-8.
 26. Lacey, L. A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *J. Invertebr. Pathol.* **132**, 1–41 (2015).
 27. Raymond, B. & Federici, B. A. In defense of *Bacillus thuringiensis*, the safest and most successful microbial insecticide available to humanity-a response to EFSA. *FEMS Microbiol. Ecol.* **93**, fix084 (2018).
 28. Vachon, V., Laprade, R. & Schwartz, J.-L. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins : A critical review. *J. Invertebr. Pathol.* **111**, 1–12 (2012).
 29. Tetreau, G. *et al.* Serial femtosecond crystallography on in vivo-grown crystals drives elucidation of mosquitocidal Cyt1Aa bioactivation cascade. *Nat. Commun.* **11**, 1153 (2020).
 30. Boisvert, M. & Boisvert, J. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Target and Nontarget Organisms: A Review of Laboratory and Field Experiments. *Biocontrol Sci. Technol.* **10**, 517–561 (2000).
 31. Lacey, L. A. *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **23**, 133–163 (2007).
 32. Ben-Dov, E. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. *Toxins (Basel)*. **6**, 1222–1243 (2014).
 33. van Frankenhuyzen, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *J. Invertebr. Pathol.* **101**, 1–16 (2009).
 34. Soberón, M. *et al.* Cell lines as models for the study of Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **93**, 66–78 (2018).
 35. Domanska, B. Mode of action of a human cancer cell active toxin (Parasporin-3) from

- Bacillus thuringiensis. (University of Sussex, 2016).
doi:<http://sro.sussex.ac.uk/66159/1/Domanska,%20Barbara.pdf>.
36. Krishnan, V. *et al.* The human cancer cell active toxin Cry41Aa from *Bacillus thuringiensis* acts like its insecticidal counterparts. *Biochem. J.* **474**, 1591–1602 (2017).
 37. Domanska, B., Fortea, E., West, M. J., Schwartz, J. L. & Crickmore, N. The role of membrane-bound metal ions in toxicity of a human cancer cell-active pore-forming toxin Cry41Aa from *Bacillus thuringiensis*. *Toxicon* **167**, 123–133 (2019).
 38. Rubio-Infante, N. & Moreno-Fierros, L. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins in mammals. *J. Appl. Toxicol.* **36**, 630–648 (2016).
 39. Tayabali, A. F. & Seligy, V. L. Human cell exposure assays of *Bacillus thuringiensis* commercial insecticides: Production of *Bacillus cereus*-like cytolytic effects from outgrowth of spores. *Environ. Health Perspect.* **108**, 919–930 (2000).
 40. Brühl, C. A. *et al.* Environmental and socioeconomic effects of mosquito control in Europe using the biocide *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti). *Sci. Total Environ.* 137800 (2020) doi:10.1016/j.scitotenv.2020.137800.
 41. Becker, N. & Margalit, J. Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. in *Use of Bacillus thuringiensis israelensis against mosquitoes and blackflies. In Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice* (eds. Entwistle, P. F., S.Cory, J., Bailey, M. J. & Higgs, S.) 147–170 (John Wiley & Sons, 1993).
 42. Pigott, C. R. & Ellar, D. J. Role of Receptors in *Bacillus thuringiensis* Crystal Toxin Activity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **71**, 255–281 (2007).
 43. Dupont, C. & Boisvert, J. Persistence of *Bacillus Thuringiensis* serovar. *Israelensis* toxic activity in the environment and interaction with natural substrates. *Water. Air. Soil Pollut.* **29**, 425–438 (1986).
 44. Després, L., Lagneau, C. & Frutos, R. Using the Bio-Insecticide *Bacillus thuringiensis israelensis* in Mosquito Control. in *Pesticides in the Modern World – Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment* (ed. Stoytcheva, M.) 93–126 (Intech Open, 2011). doi:<http://dx.doi.org/10.5772/57353>.
 45. Tetreau, G. *et al.* Fate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* in the field: Evidence for spore recycling and differential persistence of toxins in leaf litter. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 8362–8367 (2012).
 46. Tetreau, G. Devenir du bioinsecticide Bti dans l'environnement et impact sur le

- développement de résistances chez le moustique. (UNIVERSITÉ DE GRENOBLE, 2012).
47. Melo-Santos, M. A. V. De, Araújo, A. P. De, Rios, E. M. M. & Regis, L. Long lasting persistence of *Bacillus thuringiensis* serovar. israelensis larvicidal activity in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) breeding places is associated to bacteria recycling. *Biol. Control* **49**, 186–191 (2009).
 48. Becker, N. & Lüthy, P. *Mosquito Control With Entomopathogenic Bacteria in Europe. Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice* (Elsevier Inc., 2017). doi:10.1016/B978-0-12-803527-6.00026-3.
 49. KABS e.V. B.t.i. http://www.kabsev.de/1/1_3/1_3_2/1_3_2_2/index.php (2016).
 50. Becker, N. Sterilization of *Bacillus thuringiensis israelensis* products by gamma radiation. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **18**, 57–62 (2002).
 51. Manasherob, R., Ben-Dov, E., Xiaoqiang, W., Boussiba, S. & Zaritsky, A. Protection from UV-B damage of mosquito larvicidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis expressed in *Anabaena* PCC 7120. *Curr. Microbiol.* **45**, 217–220 (2002).
 52. Poulin, B. Indirect effects of bioinsecticides on the nontarget fauna: The Camargue experiment calls for future research. *Acta Oecologica* **44**, 28–32 (2012).
 53. US EPA & Walz, J. US EPA, Pesticide Product Label, VectoBac WDG Biological Larvicide label - Labeling Amendment. *US EPA 20* https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/073049-00056-20160810.pdf (2016).
 54. Coombs, R. M., Dancer, B. N., Davies, D. H., Houston, J. & Learner, M. A. The use of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis to control the nuisance fly *Sylvicola fenestralis* (Anisopodidae) in sewage filter beds. *Water Res.* **25**, 605–611 (1991).
 55. Oestergaard, J. *et al.* Biological control of *Tipula paludosa* (Diptera: Nematocera) using entomopathogenic nematodes (*Steinernema* spp.) and *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis. *Biol. Control* **39**, 525–531 (2006).
 56. Frouz, J., Lobinske, R. J., Yaqub, A. & Ali, A. Larval gut pH profile in pestiferous *Chironomus crassicaudatus* and *Glyptotendipes paripes* (Chironomidae: Diptera) in reference to the toxicity potential of *Bacillus thuringiensis* serovar Israelensis. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **23**, 355–358 (2007).
 57. Laengle, T. & Strasser, H. Developing a risk indicator to comparatively assess environmental risks posed by microbial and conventional pest control agents. *Biocontrol*

- Sci. Technol.* **20**, 659–681 (2010).
58. Joung, K. B. & Cote, J.-C. *Une analyse des incidences environnementales de l' insecticide microbien Bacillus thuringiensis. Technical Bulletin No. 29* (2000).
59. Joung, K. B. & Côté, J.-C. *A review of the environmental impacts of the microbial insecticide Bacillus thuringiensis. Technical Bulletin No. 29*
<http://library.wur.nl/WebQuery/clc/1602544> (2000).
60. Health Canada, Santé Canada & Agence de réglementation de la lutte Antiparasitaire. *Proposed Acceptability for Continuing Registration. Re-evaluation of Bacillus thuringiensis.* (2006).
61. Berry, C. The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen. *J. Invertebr. Pathol.* **109**, 1–10 (2012).
62. MEILLEUR, L., LACOURSIÈRE, J. & BOISVERT, J. *Le Bacillus sphaericus, Utilisation pour le contrôle des moustiques.* <http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/pesticides/virus-nil/Bsph-utilisation-controle-moustiques.pdf> (2010).
63. Lawler, S. P. Environmental safety review of methoprene and bacterially-derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **139**, 335–343 (2017).
64. Labbé, Y. et al. *Étude d'impact stratégique du Plan d'intervention gouvernemental de protection de la santé publique contre le virus du Nil occidental (rapport principal).*
<https://www.inspq.qc.ca/publications/687> (2006).
65. Health Canada & Santé Canada. *Décision de réévaluation Bacillus thuringiensis Re-Evaluation Decision Bacillus thuringiensis (RVD2008-18).* (2008).
66. Health Canada & Santé Canada. *Update of Re-evaluation of Bacillus thuringiensis.* (2010).
67. Gouvernement du Canada - & Government of Canada. *Pest Control Products Act (S.C. 2002, c. 28).* <http://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/p-9.01/fulltext.html> (2006).
68. Environnement et Changement climatique Canada & Santé Canada. *Évaluation préalable finale de la souche ATCC 13367 de Bacillus thuringiensis. Gouvernement du Canada*
<https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/evaluation-substances-existantes/evaluation-prealable-bacillus-thuringiensis.html> (2018).
69. Environnement Canada & Santé Canada. *Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi.* 1–24
<http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news/subs/default.asp?lang=Fr&n=120842D5-1>

- (1999).
70. US Environmental Protection Agency (EPA), Martin, K., Reynolds, A., Reilly, S. & Ross, P. *Bacillus thuringiensis - Preliminary work plan and summary document for registration review: initial docket (EPA-HQ-OPP-2011-0705)*.
<http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2011-0705-0002> (2011).
71. US Environmental Protection Agency (EPA). *Bacillus thuringiensis* Final Work Plan Registration Review Case Number 0247 September 2015. 10
<https://www.regulations.gov/docketBrowser?rpp=25&so=DESC&sb=commentDueDate&po=0&D=EPA-HQ-OPP-2011-0705> (2015).
72. US Environmental Protection Agency (EPA). *Bacillus thuringiensis Revised Preliminary Work Plan and Summary Document Registration Review : Initial Docket September 2014*.
<https://www.regulations.gov/docketBrowser?rpp=25&so=DESC&sb=commentDueDate&po=0&D=EPA-HQ-OPP-2011-0705> (2014).
73. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire - Santé Canada (ARLA). Mémoire présenté à la Commission de l'agriculture, des pêcheries, de l'énergie et des ressources naturelles (CAPERN 001M). *Assemblée Nationale du Québec* 1–7
<http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html> (2019).
74. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA). *Directive sur l'homologation des agents antiparasitaires microbiens et de leurs produits. DIR 2001-02*.
<https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/rapports-publications/pesticides-lutte-antiparasitaire/politiques-lignes-directrices/directive-homologation/2001/agents-antiparasitaires-microbiens-produits-dir2001-02.html> (2001).
75. Union européenne. Règlement (UE) no 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides. *Journal officiel de l'Union européenne* L 167/2012 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=OJ:L:2012:167:FULL&from=FR> (2012).
76. European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance *Bacillus thuringiensis israelensis* AM65-521. *EFSA J.* **12**, 3054 (2013).

77. European Commission. EU Pesticides database. *European Commission* <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN> (2016).
78. Land, M., Bundschuh, M., Hopkins, R. J., Poulin, B. & McKie, B. G. What are the effects of control of mosquitoes and other nematoceran Diptera using the microbial agent *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) on aquatic and terrestrial ecosystems? A systematic review protocol. *Environ. Evid.* **8**, 1–11 (2019).
79. Santé Canada. Procédure d'homologation de pesticide. <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pest/part/protect-proteger/regist-homolog/index-fra.php> (2004).
80. Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.-M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* **52**, 81–106 (2007).
81. Croft, B. A. *Arthropod biological control agents and pesticides*. (Wiley and Sons. New York, 1990).
82. Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE). Guidance to the Environmental Safety Evaluation of Microbial Biocontrol Agents. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Pesticides No. 67 (ENV/JM/MONO(2012)1). *OCDE* 1–63 [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2012\)1&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)1&doclanguage=en) (2012).
83. Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux De Vendômois, J. & Séralini, G. E. Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. *Biomed Res. Int.* **2014**, 179691 (2014).
84. Cox, C. & Surgan, M. Unidentified inert ingredients in pesticides: Implications for human and environmental health. *Environ. Health Perspect.* **114**, 1803–1806 (2006).
85. Wagner, N., Reichenbecher, W., Teichmann, H., Tappeser, B. & Lotters, S. Questions concerning the potential impact of glyphosate-based herbicides on amphibians. *Environ. Toxicol. Chem.* **32**, 1688–1700 (2013).
86. National Academy of Sciences (NAS). *Assessing Risks to Endangered and Threatened Species from Pesticides Committee on Ecological Risk Assessment Under FIFRA and ESA ; Board Studies ; National Research Council.* (2013).
87. Hartl, B. Comments on EPA of *Bacillus thuringiensis* (Docket #: EPA-HQ-OPP-2011-0705). [ID: EPA-HQ-OPP-2011-0705-0006]. *Regulations.gov* 1–10

- <https://www.regulations.gov/docketBrowser?rpp=25&so=DESC&sb=commentDueDate&po=0&D=EPA-HQ-OPP-2011-0705> (2014) doi:10.7868/s0555109913010030.
88. La commissaire à l'environnement et au développement durable du bureau du vérificateur général du Canada. Rapport 1 — La sécurité des pesticides. *Bureau du vérificateur général du Canada* http://www.oag-bvg.gc.ca/internet/Francais/parl_cesd_201601_01_f_41015.html (2015).
89. Gouvernement du Canada. Loi sur les produits antiparasitaires. *Site Web de la législation (Justice)* https://laws-lois.justice.gc.ca/fra/loisAnnuelles/2002_28/page-1.html?wbdisable=true#wb-cont (2002).
90. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire & Santé Canada. Directive d'homologation DIR2016-03, Décision définitive concernant les homologations conditionnelles aux termes du Règlement sur les produits antiparasitaires. *Gouvernement du Canada - Canada.ca* <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/rapports-publications/pesticides-lutte-antiparasitaire/politiques-lignes-directrices/directive-homologation/2016/conditionnelles-termes-reglement-produits-antiparasitaires-direc> (2016).
91. Dugal, J. & Coomes, O. *Évaluation des effets de l'insecticide Bacillus thuringiensis Berliner sur la faune vertébrée du Québec*. <ftp://ftp.mern.gouv.qc.ca/Public/Bibliointer/Mono/2012/04/1111621.pdf> (1986).
92. Ministère du Développement durable de l'Environnement de la Faune et des Parcs (MDDEFP). Travaux d'application de larvicides réalisés dans le cadre d'un plan d'intervention gouvernemental pour le contrôle du virus du Nil occidental (Instructions no : 14-01). <http://intramddep.intranet.mrn.gouv/Organisation/directions/dgaer/notes-instructions/2014/1401/index.htm> (2014).
93. Machado, A. A. D. S., Zarfl, C., Rehse, S. & Kloas, W. Low-Dose Effects: Nonmonotonic Responses for the Toxicity of a Bacillus thuringiensis Biocide to Daphnia magna. *Environ. Sci. Technol.* **51**, 1679–1686 (2017).
94. Mackenzie, R. A. & Kaster, J. L. Temporal and Spatial Patterns of Insect Emergence From a Lake Michigan Coastal Wetland. *Wetlands* **24**, 688–700 (2004).
95. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). À propos - Surveillance des maladies d'intérêt transmises par des moustiques au Québec -. *Ministère de la Santé et*

- des Services sociaux* <http://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/surveillance-des-maladies-d-interet-transmises-par-des-moustiques-au-quebec/a-propos/> (2018).
96. Ludwig, A. *et al.* Increased risk of endemic mosquito-borne diseases in Canada due to climate change. *Canada Commun. Dis. Rep.* **45**, 90–97 (2019).
97. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Plan d' intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental. 29 (2013).
98. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Plan d' intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental. Mise à jour - Saison 2014. 12 (2014).
99. Evans, M., Dallas, T. A., Han, B. A., Murdock, C. C. & Drake, J. M. Data-driven identification of potential Zika virus vectors. *Elife* 1–38 (2017) doi:10.7554/eLife.22053.
100. Bajer, E. Brock team finds first *Aedes aegypti* mosquitoes in Canada. *The Brock News - Brock University* <https://brocku.ca/brock-news/2016/10/brock-team-finds-first-aedes-aegypti-mosquitoes-in-canada/> (2016).
101. Ng, V. *et al.* Assessment of the Probability of Autochthonous Transmission of Chikungunya Virus in Canada under Recent and Projected Climate Change. *Environ. Heal.* **125**, EHP669 (2017).
102. O'Donnell, K. L., Bixby, M. A., Morin, K. J., Bradley, D. S. & Vaughan, J. A. Potential of a northern population of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) to transmit Zika virus. *J. Med. Entomol.* **54**, 1354–1359 (2017).
103. Daoust-Boisvert, A. Zika: la chasse aux moustiques s'intensifie au Québec. *Le Devoir* 12 juin <https://www.ledevoir.com/societe/science/530055/incursion-d-un-moustique-tropical> (2018).
104. Moltini-Conclois, I., Stalinski, R., Tetreau, G., Després, L. & Lambrechts, L. Larval Exposure to the Bacterial Insecticide Bti Enhances Dengue Virus Susceptibility of Adult *Aedes aegypti* Mosquitoes. *Insects* **9**, 1–8 (2018).
105. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Tableau des cas humains - Archives 2002 à 2018 - Virus du Nil occidental (VNO) - Professionnels de la santé - MSSS. *Ministère de la Santé et des Services sociaux* <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/virus-du-nil-occidental-vno/tableau-des-cas-humains-archives/> (2019).

106. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Virus du Nil occidental (VNO) - Tableau des cas humains – Bilan 2018 -. *Ministère de la Santé et des Services sociaux* <http://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/virus-du-nil-occidental-vno/tableau-des-cas-humains-bilan/> (2018).
107. Leblanc, M.-A., Mercier, M., Gaulin, C., Valiquette, L. & Direction de la vigie sanitaire de la Direction de la protection de la santé publique du ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec (MSSS). Virus du Nil occidental et autres arboviroses. *Flash Vigie - Bulletin québécois de vigie, de surveillance et d'intervention en protection de la santé publique* vol. 14 4–8 http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/flashvigie/FlashVigie_vol14_no5.pdf (2019).
108. FLEURY, É. Virus du Nil occidental 2018: année record pour le Québec | Le Soleil - Québec. *Le Soleil* 10 juin 2019 <https://www.lesoleil.com/actualites/virus-du-nil-occidental-2018-annee-record-pour-le-quebec-bfed2c54346f5dfde66aaa9c65324369> (2019).
109. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Virus du Nil occidental (VNO) - Tableau des cas humains – Bilan 2019 - Professionnels de la santé - MSSS. *Ministère de la Santé et des Services sociaux* <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/virus-du-nil-occidental-vno/tableau-des-cas-humains-vno-bilan/> (2019).
110. Campagna, C., Samuel, O., Dubé, M., Lebel, G. & Toutant, S. *Évaluation de l'efficacité des larvicides contre les espèces vectrices du virus du Nil occidental. Rapport d'évaluation.* <https://www.inspq.qc.ca/publications/2452> (2018).
111. Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS). Interventions de prévention et contrôle - Virus du Nil occidental (VNO) - Professionnels de la santé - MSSS. *Ministère de la Santé et des Services sociaux* <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/virus-du-nil-occidental-vno/interventions-de-prevention-et-controle/> (2019).
112. Land, M. & Miljand, M. *Biological control of mosquitoes using Bacillus thuringiensis israelensis: a pilot study of effects on target organisms, non-target organisms and humans.* (Mistra EviEM Pilot Study PS4 (www.eviem.se), 2014).
113. Paul, A., Harrington, L. C., Zhang, L. & Scott, J. G. Insecticide resistance in *Culex pipiens*

- from New York. *J Am Mosq Cont Assoc* **21**, 305–309 (2005).
114. Cabrera, P. *Unités de doses et de concentrations d'épandage de Bti. Rapport final préparé pour le Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Québec.* (2018).
115. Commission de l'agriculture des pêcheries de l'énergie et des ressources naturelles (CAPERN). *Examiner les impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement, ainsi que les pratiques de remplacement innovantes disponibles et à venir dans les secteurs de l'agriculture et de l'alimentation, et ce en reconnaissance de la compétitivité du. Assemblée Nationale du Québec* <http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/capern/mandats/Mandat-40773/index.html> (2020).
116. Monsanto Papers | Declassified Secret Documents. *Baum, Hedlund, Aristei & Goldman* <https://www.baumhedlundlaw.com/toxic-tort-law/monsanto-roundup-lawsuit/monsanto-secret-documents/> (2019).
117. Le Page, M. Decline of migrating birds could be partly due to pesticides. *New Scientist* 12 september <https://www.newscientist.com/article/2216318-decline-of-migrating-birds-could-be-partly-due-to-pesticides/> (2019).
118. Labrie, G., Gagnon, A.-È., Vanasse, A., Latraverse, A. & Tremblay, G. Impacts of neonicotinoid seed treatments on soil-dwelling pest populations and agronomic parameters in corn and soybean in Quebec. *PLoS One* **15**, e0229136 (2020).
119. Commission de l'agriculture des pêcheries de l'énergie et des ressources naturelles (CAPERN). *Examiner les impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement, ainsi que les pratiques de remplacement innovantes disponibles et à venir dans les secteurs de l'agriculture et de l'alimentation, et ce en reconnaissance de la compétitivité du. Assemblée Nationale du Québec* <http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/capern/mandats/Mandat-40773/index.html> (2019).
120. Groupe Citoyens De Labelle. *Mémoire présenté à la commission De l'agriculture, des pêcheries, de l'énergie et des ressources naturelles Par le groupe NON AU Bacillus thuringiensis var. israelensis, Bti. Assemblée Nationale du Québec* <http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html> (2019).
121. Charron, C. & Paré, D. *Impacts des pesticides sur la santé publique et l'environnement- Mémoire présenté à la Commission de l'agriculture , des pêcheries , de l'énergie et des*

- ressources naturelles. Assemblée Nationale du Québec*
<http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html>
(2019).
122. Sauvé, S. La science des pesticides doit être indépendante, plaide un chercheur. *The Conversation* <https://theconversation.com/la-science-des-pesticides-doit-etre-independante-plaide-un-chercheur-112034> (2019).
123. Sauvé, S. Pesticide research must stay transparent and independent. *The Conversation* <https://theconversation.com/pesticide-research-must-stay-transparent-and-independent-112821> (2019) doi:10.1002/ajim.20357.
124. Samuel, O. *et al.* Les risques sanitaires des pesticides: des pistes d'action pour en réduire les impacts (Mémoire CAPERN 044M). *Assemblée Nationale du Québec* 1 à 74
<http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html>
(2019).
125. Bérubé, R., Sanderson, T. J., Langlois, V. S. & (Institut national de la recherche scientifique). Mémoire sur l'impact des pesticides dans l'environnement au Québec (CAPERN 043 M). *Assemblée Nationale du Québec* 1–25
<http://www.assnat.qc.ca/fr/travaux-parlementaires/commissions/CAPERN/mandats/Mandat-40773/memoires-deposes.html>
(2019).
126. Aviv, R. A Valuable Reputation. After Tyrone Hayes said that a chemical was harmful, its maker pursued him. *The New Yorker* 10 February
<https://www.newyorker.com/magazine/2014/02/10/a-valuable-reputation> (2014).
127. Wikipedia. Norbert Becker (biologist) - Wikipedia. *Wikipedia*
[https://en.wikipedia.org/wiki/Norbert_Becker_\(biologist\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Norbert_Becker_(biologist)) (2019).
128. Brühl, C., Frör, O. & Allgeier, S. „ *Entwicklung eines naturschutzkonformen Konzeptes zur Stechmückenbekämpfung am Oberrhein “ Zwischenbericht zum DBU.* (2018).
129. Brühl, C., Frör, O. & Allgeier, S. *Entwicklung eines naturschutzkonformen Konzeptes zur Stechmückenbekämpfung am Oberrhein. Abschlussbericht zu DBU Projekt Az 32608/01.* 1–85 <https://www.uni-koblenz-landau.de/en/campus-landau/faculty7/environmental-sciences/ecotoxicology-environment/research-transfer/projects-terr->

- ecotox/MOSCOFEE/moscofee (2019).
130. Valent Biosciences. Vectobac-TP-Specimen Label.pdf. 2 <http://napamosquito.org/wp-content/uploads/2012/03/Vectobac-TP-Label.pdf> (2012).
 131. Becker Microbial Products. Aquabac Primary Powder OSF. 2 <https://beckermicrobialproductsinc.com/wp-content/uploads/2019/07/Aquabac-Primary-Powder-Specimen-Label.pdf>.
 132. Czarnota, M. & Thomas, P. Using surfactants, wetting agents, and adjuvants in the greenhouse. *Coop. Ext. Serv. Univ. Georg. Coll. Agric. Environ. Sci. - Bull.* **1314** 1–8 (2010).
 133. Valent BioSciences. VectoBac WDG/WG. *Valent BioSciences* <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#downloads1> (2018).
 134. Valent BioSciences. VectoBac DT (tablets). *Valent BioSciences* <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#downloads4> (2018).
 135. Summit Chemical Company. Mosquito Dunks® | Mosquito and Insect Control Products. <https://www.summitchemical.com/mosquito/mosquito-dunks/> (2018).
 136. Maletz, S. *et al.* Investigation of potential endocrine disrupting effects of mosquito larvicidal *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) formulations. *Sci. Total Environ.* **536**, 729–38 (2015).
 137. Valent BioSciences. VectoBac Aqueous Suspension. *VectoBac – Valent BioSciences – Public Health* <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Aqueous> (2019).
 138. Valent BioSciences. VectoBac Granules. *Valent BioSciences* <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Granules> (2019).
 139. Wipfli, M. S., Merritt, R. W. & Taylor, W. W. Low Toxicity of the Black Fly Larvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to Early Stages of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*), Brown Trout (*Salmo trutta*), and Steelhead Trout (*Oncorhynchus mykiss*) following Direct and Indirect Exposure. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **51**, 1451–1 458 (1994).
 140. Lajmanovich, R. C. *et al.* Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in aqueous suspension on the South American common frog *Leptodactylus latrans* (Anura:

- Leptodactylidae) tadpoles. *Environ. Res.* **136**, 205–212 (2015).
141. Stevens, M. M., Akhurst, R. J., Clifton, M. A. & Hughes, P. A. Factors affecting the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* to fourth instar larvae of *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae). *J. Invertebr. Pathol.* **86**, 104–110 (2004).
142. Relyea, R. A. & Jones, D. K. The toxicity of Roundup Original Max to 13 species of larval amphibians. *Environ. Toxicol. Chem.* **28**, 2004–2008 (2009).
143. Lajmanovich, R. C. *et al.* Individual and mixture toxicity of commercial formulations containing glyphosate, metsulfuron-methyl, bispyribac-sodium, and picloram on *rhinella arenarum* tadpoles. *Water. Air. Soil Pollut.* **224**, (2013).
144. Hayes, T. B. *et al.* Pesticides Mixtures, Endocrines Disruption, and Amphibian Declines : Are We Underestimating the Impact? *Environ. Health Perspect.* **114**, 10 (2006).
145. Lee, B. M. & Scott, G. I. Acute Toxicity of Temephos, Fenoxycarb, Diflubenzuron, and Methoprene and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to the Mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **43**, 827–832 (1989).
146. Delnat, V., Tran, T. T., Janssens, L. & Stoks, R. Daily temperature variation magnifies the toxicity of a mixture consisting of a chemical pesticide and a biopesticide in a vector mosquito. *Sci. Total Environ.* **659**, 33–40 (2019).
147. Boyer, S., Sérandour, J., Lempérière, G., Raveton, M. & Ravanel, P. Do herbicide treatments reduce the sensitivity of mosquito larvae to insecticides? *Chemosphere* **65**, 721–724 (2006).
148. Giroux, I. *Présence de pesticides dans l’eau au Québec : Portrait et tendances dans les zones de maïs et de soya – 2011 à 2014.* (2015).
149. Giroux, I. *Présence de pesticides dans l’eau de surface au Québec Zones de vergers et de cultures maraîchères, 2013 à 2016.* (2017).
150. Québec. Rapport sur l’état de l’eau et des écosystèmes aquatiques au Québec. La qualité de l’eau. Quelle est la situation et quelles sont les causes?
http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/rapportsurleau/Etat-eau-ecosysteme-aquatique-qualite-eau-Quelle-situation_Rivieres-Fleuve.htm.
151. Équiterre. Un pesticide dangereux détecté dans l’eau potable de millions de Canadiens.
<http://equiterre.org/communiqué/un-pesticide-dangereux-detecte-dans-leau-potable-de-millions-de-canadiens> (2017).
152. Giroux, I. *État de situation sur la présence de pesticides au lac Saint-Pierre.* (2018).

153. Mohr, S. *et al.* Macroinvertebrate community response to repeated short-term pulses of the insecticide imidacloprid. *Aquat. Toxicol.* **110–111**, 25–36 (2012).
154. Yamamuro, M. *et al.* Neonicotinoids disrupt aquatic food webs and decrease fishery yields. *Science* **366**, 620–623 (2019).
155. Park, Y., Jung, J. K. & Kim, Y. A Mixture of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* With *Xenorhabdus nematophila*-Cultured Broth Enhances Toxicity Against Mosquitoes *Aedes albopictus* and *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.* **109**, 1086–1093 (2016).
156. Afrane, Y. A. *et al.* Evaluation of long-lasting microbial larvicide for malaria vector control in Kenya. *Malar. J.* **15**, (2016).
157. Derua, Y. A. *et al.* Microbial larvicides for mosquito control: Impact of long lasting formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* on non-target organisms in western Kenya highlands. *Ecol. Evol.* **8**, 7563–7573 (2018).
158. Valent Biosciences. VectoBac. Conseils techniques pour l'utilisation du VectoBac 12AS Larvicide anti-moustiques et anti-simulies. 8 pp <https://docplayer.fr/13313058-Vectobac-conseils-techniques-pour-l-utilisation-du-vectobac-12as-larvicide-anti-moustiques-et-anti-simulies.html> (2004).
159. Valent BioSciences Corporation. VectoBac - Aqueous Suspension. <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/vectobac/#VectoBac-Aqueous> (2019).
160. GDG Environnement. *RAPPORT FINAL CONTRÔLE BIOLOGIQUE DES INSECTES PIQUEURS Ville de Shawinigan Saison 2017*. [http://www.shawinigan.ca/Document/FichiersPDF/Citoyens/Eau et environnement/Rapport final 2017.pdf](http://www.shawinigan.ca/Document/FichiersPDF/Citoyens/Eau%20et%20environnement/Rapport%20final%202017.pdf) (2017) doi:10.3917/presa.181.0441.
161. Chemotecnica S.A. Introban - Chemotécnica S.A. *Chemotecnica* http://mail.chemotecnica.com/english/saludambiental_producto_eng.php?id=45 (2018).
162. Chemotecnica. Larvicidas - Salud Ambiental. *Chemotecnica* <https://www.chemotecnica.com/larvicidas>.
163. Tecnogran SRL. Introban anillos etiqueta – Tecnogran SRL. *Tecnogran SRL* <http://www.tecnogran.com/producto/introban/>.
164. Becker Microbial Products. Aquabac - Becker Microbial Products. *Becker Microbial Products* <https://beckermicrobialproductsinc.com/products/>.

165. Valent BioSciences. The Science of Specificity - Products – Valent BioSciences – Public Health. *Valent BioSciences* <https://www.valentbiosciences.com/publichealth/products/> (2018).
166. Junges, C. M., Maglianese, M. I., Lajmanovich, R. C., Peltzer, P. M. & Attademo, A. M. Acute Toxicity and Etho-toxicity of Three Insecticides Used for Mosquito Control on Amphibian Tadpoles. *Water. Air. Soil Pollut.* **228**, 143 (2017).
167. Becker, N., Zgomba, M., Ludwig, M., Petric, D. & Rettich, F. Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* treatments. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **8**, 285–9 (1992).
168. Tilquin, M. *et al.* Long Lasting Persistence of *Bacillus thuringiensis* Subsp. *israelensis* (Bti) in Mosquito Natural Habitats. *PLoS One* **3**, e3432 (2008).
169. Ohana, B., Margalit, J., Barak, Z. E. & Barak, Z. E. E. V. Fate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* under Simulated Field Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**, 828–831 (1987).
170. Schneider, S., Hendriksen, N. B., Melin, P. & Lundström, J. O. *Bacillus cereus* Group Members with Focus on *B. thuringiensis* Serovar *israelensis* Active against Nematoceran Larvae. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 4894–4903 (2015).
171. Schneider, S. *et al.* Do Multi-year Applications of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* for Control of Mosquito Larvae Affect the Abundance of *B. cereus* Group Populations in Riparian Wetland Soils? *Microb. Ecol.* **74**, 901–909 (2017).
172. Guidi, V., Lehner, A., Lüthy, P. & Tonolla, M. Dynamics of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and *Lysinibacillus sphaericus* Spores in Urban Catch Basins after Simultaneous Application against Mosquito Larvae. *PLoS One* **8**, 2–9 (2013).
173. De Respinis, S. *et al.* Molecular identification of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to trace its fate after application as a biological insecticide in wetland ecosystems. *Lett. Appl. Microbiol.* **43**, 495–501 (2006).
174. Duchet, C. *et al.* Persistence and recycling of bioinsecticidal *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* spores in contrasting environments: evidence from field monitoring and laboratory experiments. *Microb. Ecol.* **67**, 576–86 (2014).
175. Mudgal, S., De Toni, A., Tostivint, C., Hokkanen, H. & Chandler, D. *Scientific support , literature review and data collection and analysis for risk assessment on microbial organisms used as active substance in plant protection products – Lot 1 Environmental*

- Risk characterisation. EFSA supporting publication 2013: EN-518 (2013).*
176. Guidi, V., Patocchi, N., Lüthy, P. & Tonolla, M. Distribution of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in Soil of a Swiss Wetland Reserve after 22 Years of Mosquito Control. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 3663–3668 (2011).
177. Poulin, B. *Rapport final sur le suivi scientifique annuel mené en 2015 en parallèle aux opérations de démoustication au Bti sur le périmètre du Parc naturel régional de Camargue. Rapport présenté au Parc naturel régional de Camargue.* (2016).
178. Poulin, B. *Rapport final sur le suivi scientifique annuel mené en 2013 en parallèle aux opérations de démoustication au Bti sur le périmètre du Parc Naturel Régional de Camargue. Rapport présenté au Parc Naturel Régional de Camargue.* (2014).
179. Poulin, B. & Lefebvre, G. Perturbation and delayed recovery of the reed invertebrate assemblage in Camargue marshes sprayed with *Bacillus thuringiensis israelensis*. *Insect Sci.* **25**, 542–548 (2018).
180. Manasherob, R., Ben-dov, E. & Zaritsky, A. Germination, Growth, and Sporulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in Excreted Food Vacuoles of the Protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1750–1758 (1998).
181. Boisvert, M. Étude de la persistance d'un insecticide biologique, *Bacillus thuringiensis* serovariete *israelensis* dans le milieu aquatique. (Mémoire. Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, 1988).
182. Boisvert, M. & Boisvert, J. Persistence of toxic activity and recycling of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in cold water: Field experiments using diffusion chambers in a pond. *Biocontrol Sci. Technol.* **9**, 507–522 (1999).
183. Hendriksen, N. B. & Hansen, B. M. Long-term survival and germination of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in a field trial. *Can. J. Microbiol.* **48**, 256–261 (2002).
184. Guillet, F. & Mermet, L. L'expertise, composante essentielle, mais insuffisante des stratégies pour la biodiversité : le cas de la démoustication en Camargue (France). *VertigO – La Rev. en Sci. l'environnement* **13**, (2013).
185. Guillet, F. & Mermet, L. How to make biodiversity knowledge compelling? The case of mosquito control implementation in the Camargue (France). *Environ. Sci. Policy* (2017) doi:10.1016/j.envsci.2017.05.004.
186. Balenghien, T., Carron, A., Sinègre, G. & Bicout, D. J. Mosquito density forecast from flooding: Population dynamics model for *Aedes caspius* (Pallas). *Bull. Entomol. Res.* **100**,

- 247–254 (2010).
187. Jakob, C. & Poulin, B. Indirect effects of mosquito control using Bti on dragonflies and damselflies (Odonata) in the Camargue. *Insect Conserv. Divers.* **9**, 161–169 (2016).
188. KABS e.V. Geschichte der Stechmückenbekämpfung und der KABS e.V. http://www.kabsev.de/1/1_3/1_3_4/index.php (2016).
189. KABS e.V. Satzung der Kommunalen Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage e.V. (KABS). http://www.kabsev.de/1/1_2/1_2_1/1_2_1_1/index.php (2002).
190. Becker, N. Microbial control of mosquitoes: Management of the upper rhine mosquito population as a model programme. *Parasitol. Today* **13**, 485–487 (1997).
191. Brühl, C. A., Entling, M. H., Allgeier, S., Ehlert, A. & Kästel, A. Untersuchungen zur Schnakenbekämpfung mit Bti auf das Nahrungsnetz: Studie Geinsheim (Endbericht). 20 <https://www.uni-koblenz-landau.de/en/campus-landau/faculty7/environmental-sciences/ecotoxicology-environment/research-transfer/projects-terr-ecotox/old/MOSCOFEE/endbericht-geinsheim> (2014).
192. Schweizer, M., Miksch, L., Köhler, H.-R. & Triebkorn, R. Corrigendum to “Does Bti (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) affect *Rana temporaria* tadpoles?” [Ecotoxicol. Environ. Safe. 181 (2019) 121–129]. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **187**, 109832 (2020).
193. Norbert Becker *et al.* *Mosquitoes and Their Control*. (Kluwer - Springer, 2003).
194. KABS. Das Gebiet der KABS. KABS https://www.kabsev.de/1/1_2/1_2_3/index.php (2015).
195. Becker, N. Ice granules containing endotoxins of microbial agents for the control of mosquito larvae - A new application technique. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **19**, 63–66 (2003).
196. Kästel, A., Allgeier, S. & Brühl, C. A. Decreasing *Bacillus thuringiensis israelensis* sensitivity of *Chironomus riparius* larvae with age indicates potential environmental risk for mosquito control. *Sci. Rep.* **7**, 13565 (2017).
197. Allgeier, S., Kästel, A. & Brühl, C. A. Adverse effects of mosquito control using *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Reduced chironomid abundances in mesocosm, semi-field and field studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **169**, 786–796 (2019).
198. KABS. Aktuelles von der KABS e.V. Nachtragshaushalt genehmigt – KABS kann weiter bekämpfen. KABS [https://www.kabsev.de/7/7_1/7_1_0/7.php?q=becker norbert](https://www.kabsev.de/7/7_1/7_1_0/7.php?q=becker%20norbert) (2016).

199. Allgeier, S., Frombold, B., Mingo, V. & Brühl, C. A. European common frog *Rana temporaria* (Anura: Ranidae) larvae show subcellular responses under field-relevant *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) exposure levels. *Environ. Res.* **162**, 271–279 (2018).
200. KABS e.V. Vorgehen bei der Bekämpfung.
http://www.kabsev.de/1/1_3/1_3_2/1_3_2_3/index.php (2016).
201. KABS e.V. Einfluss von Bti auf die Zuckmückenfauna.
http://www.kabsev.de/1/1_7/1_7_1/index.php (2016).
202. Timmermann, U. & Becker, N. Impact of routine *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) treatment on the availability of flying insects as prey for aerial feeding predators. *Bull. Entomol. Res.* (2017) doi:10.1017/S0007485317000141.
203. Nakano, S. & Murakami, M. Reciprocal subsidies: Dynamic interdependence between terrestrial and aquatic food webs. *PNAS* **98**, 166–170 (2001).
204. Iwata, T., Nakano, S. & Murakami, M. Stream meanders increase insectivorous bird abundance in riparian deciduous forests. *Ecography (Cop.)*. **26**, 325–337 (2003).
205. Wipfli, M. S. Terrestrial invertebrates as salmonid prey and nitrogen sources in streams: contrasting old-growth and young-growth riparian forests in southeastern Alaska, U.S.A. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**, 1259–1269 (2011).
206. Fausch, K. D., Power, M. E. & Murakami, M. Linkages between stream and forest food webs: Shigeru Nakano's legacy for ecology in Japan. *Trends Ecol. Evol.* **17**, 429–434 (2002).
207. Martin-Creuzburg, D., Kowarik, C. & Straile, D. Cross-ecosystem fluxes: Export of polyunsaturated fatty acids from aquatic to terrestrial ecosystems via emerging insects. *Sci. Total Environ.* **577**, 174–182 (2017).
208. Schulz, R. *et al.* Review on environmental alterations propagating from aquatic to terrestrial ecosystems. *Sci. Total Environ.* **538**, 246–261 (2015).
209. Hoekman, D., Dreyer, J., Jackson, R. D., Townsend, P. A. & Gratton, C. Lake to land subsidies: Experimental addition of aquatic insects increases terrestrial arthropod densities. *Ecology* **92**, 2063–2072 (2011).
210. Kato, C., Iwata, T., Nakano, S. & Kishi, D. Dynamics of aquatic insect flux affects distribution of riparian web-building spiders. *Oikos* **103**, 113–120 (2003).
211. Fukui, D., Murakami, M., Nakano, S. & Aoi, T. Effect of emergent aquatic insects on bat

- foraging in a riparian forest. *J. Anim. Ecol.* **75**, 1252–1258 (2006).
212. Vander Zanden, M. J. & Gratton, C. Blowin' in the wind: reciprocal airborne carbon fluxes between lakes and land. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **68**, 170–182 (2011).
 213. Tiegs, S. D. *et al.* Global patterns and drivers of ecosystem functioning in rivers and riparian zones. *Sci. Adv.* **5**, eaav0486 (2019).
 214. Paetzold, A. & Tockner, K. Effects of riparian arthropod predation on the biomass and abundance of aquatic insect emergence. *J. North Am. Benthol. Soc.* **24**, 395–402 (2005).
 215. Paetzold, A., Schubert, C. J. & Tockner, K. Aquatic terrestrial linkages along a braided-river: Riparian arthropods feeding on aquatic insects. *Ecosystems* **8**, 748–759 (2005).
 216. Kautza, A. & Sullivan, S. M. P. The energetic contributions of aquatic primary producers to terrestrial food webs in a mid-size river system. *Ecology* **97**, 694–705 (2016).
 217. Sanzone, D. M. *et al.* Carbon and nitrogen transfer from a desert stream to riparian predators. *Oecologia* **134**, 238–250 (2003).
 218. Morawcsik, J. Untersuchungen zur Wirkung von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* auf aquatische Nontarget-Organismen. (Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Inaugural-Dissertation, 1983).
 219. Metzger, R. Die Chironomiden-Fauna (Diptera) ausgewählter Gewässer am nördlichen Oberrhein sowie deren mögliche Beeinflussung durch die Stechmückenbekämpfung mit B.t.i.-Präparaten (résumé).
https://www.kabsev.de/1/1_7/1_7_0/1_7_0_3/Metzger_1987.php (1987).
 220. Lagadic, L., Roucaute, M. & Caquet, T. Bti sprays do not adversely affect non-target aquatic invertebrates in French Atlantic coastal wetlands. *J. Appl. Ecol.* **51**, 102–113 (2014).
 221. Lagadic, L. *et al.* No association between the use of Bti for mosquito control and the dynamics of non-target aquatic invertebrates in French coastal and continental wetlands. *Sci. Total Environ.* **553**, 486–494 (2016).
 222. Duchet, C., Franquet, E., Lagadic, L. & Lagneau, C. Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* and spinosad on adult emergence of the non-biting midges *Polypedium nubifer* (Skuse) and *Tanytarsus curticornis* Kieffer (Diptera: Chironomidae) in coastal wetlands. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **115**, 272–278 (2015).
 223. Pont, D., Franquet, E. & Tourenq, J. N. Impact of different *Bacillus thuringiensis* variety *israelensis* treatments on a chironomid (Diptera Chironomidae) community in a

- temporary marsh. *J. Econ. Entomol.* **92**, 266–272 (1999).
224. Lundström, J. O. *et al.* Production of wetland Chironomidae (Diptera) and the effects of using *Bacillus thuringiensis israelensis* for mosquito control. *Bull. Entomol. Res.* **100**, 117–125 (2010).
225. Lundström, J. O., Brodin, Y., Schäfer, M. L., Persson Vinnersten, T. Z. & Ostman, O. High species richness of Chironomidae (Diptera) in temporary flooded wetlands associated with high species turn-over rates. *Bull. Entomol. Res.* **100**, 433–44 (2010).
226. Persson Vinnersten, T. Z. *et al.* A six-year study of insect emergence from temporary flooded wetlands in central Sweden, with and without Bti-based mosquito control. *Bull. Entomol. Res.* **100**, 715–725 (2010).
227. Rey, D., Long, A., Pautou, M. P. & Meyran, J. C. Comparative histopathology of some Diptera and Crustacea of aquatic alpine ecosystems, after treatment with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Entomol. Exp. Appl.* **88**, 255–263 (1998).
228. Theissinger, K. *et al.* Using DNA metabarcoding for assessing chironomid diversity and community change in mosquito controlled temporary wetlands. *Metabarcoding and Metagenomics* **2**, e21060 (2018).
229. Fillinger, U. Faunistische und ökotoxikologische Untersuchungen mit B.t.i. an Dipteren der nördlichen Oberrheinauen unter besonderer Berücksichtigung der Verbreitung und Phänologie einheimischer Zuckmückenarten (Chironomidae) (Résumé). (Universität Heidelberg, 1998).
230. Theissinger, K. *et al.* Mosquito control actions affect chironomid diversity in temporary wetlands of the Upper Rhine Valley. *Mol. Ecol.* 1–17 (2019) doi:10.1111/mec.15214.
231. Hilbeck, A., Moar, W. J., Pusztai-Carey, M., Filippini, A. & Bigler, F. Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomol. Exp. Appl.* **91**, 305–316 (1999).
232. Armitage, P. D., Pinder, L. C. V. & Cranston, P. S. *The Chironomidae. Biology and ecology of non-biting midges*. (Springer Science+Business Media, 1995). doi:10.1007/978-94-011-0715-0.
233. Wolfram, G., Wenzl, P. & Jerrentrup, H. A multi-year study following BACI design reveals no short-term impact of Bti on chironomids (Diptera) in a floodplain in Eastern Austria. *Environ. Monit. Assess.* **190**, 709 (2018).
234. Dickman, M. Impacts of a mosquito selective pesticide, Bti, on the macroinvertebrates of

- a subtropical stream in Hong Kong. *Chemosphere* **41**, 209–217 (2000).
235. Stevens, M. M., Hughes, P. A. & Mo, J. Evaluation of a commercial *Bacillus thuringiensis* var. israelensis formulation for the control of chironomid midge larvae (Diptera: Chironomidae) in establishing rice crops in south-eastern Australia. *J. Invertebr. Pathol.* **112**, 9–15 (2013).
236. Ali, A., Lobinske, R., Leckel Jr., R., Carandang, N. & Mazumdar, A. Population survey and control of Chironomidae (Diptera) in wetlands in northeast Florida, USA. *Florida Entomol.* **91**, 446–452 (2008).
237. Ali, A., Baggs, R. D. & Stewart, J. P. Susceptibility of Some Florida Chironomids and Mosquitoes to Various Formulations of *Bacillus thuringiensis* serovar. israelensis (abstract). *Journal of Economic Entomology* 672–677
<https://academic.oup.com/jee/article-abstract/74/6/672/2213426> (1981).
238. Organization for Economic Co-operation and Development & OECD/OCDE. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Effects on Biotic Systems. Test No. 235: *Chironomus* sp., Acute Immobilisation Test. *OECD Library* 17
http://biotechnologiebt.com/guide/OECD_227.pdf (2011) doi:10.1787/9789264067394-eng.
239. Environment Canada & EC. *Biological Test Method. Test for Survival and Growth in Sediment Using Larvae of Freshwater Midges (Chironomus tentans or Chironomus riparius)* Canadian Cataloguing in Publication Data. (Environment Canada, 1997).
240. Bordalo, M. D. *et al.* Lethal and sublethal toxicity assessment of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis and *Beauveria bassiana* based bioinsecticides to the aquatic insect *Chironomus riparius*. *Sci. Total Environ.* **698**, 134155 (2020).
241. Lavarias, S., Arrighetti, F. & Siri, A. Histopathological effects of cypermethrin and *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on midgut of *Chironomus calligraphus* larvae (Diptera: Chironomidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* **139**, 9–16 (2017).
242. Christiansen, J. A. *et al.* Influence of temperature and concentration of VectoBac® on control of the salt-marsh mosquito, *Ochlerotatus squamiger*, in Monterey county, California. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **20**, 165–170 (2004).
243. Stevens, M. M., Helliwell, S. & Hughes, P. a. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis formulations, spinosad, and selected synthetic insecticides to *Chironomus tepperi* larvae. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **21**, 446–450 (2005).

244. Back, C., Boisvert, J., Lacoursière, J. O. & Charpentier, G. HIGH-DOSAGE TREATMENT OF A QUEBEC STREAM WITH BACILLUS THURINGIENSIS SEROVAR. ISRAELENIS: EFFICACY AGAINST BLACK FLY LARVAE (DIPTERA: SIMULIIDAE) AND IMPACT ON NON-TARGET INSECTS. *Can. Entomol.* **117**, 1523–1534 (1985).
245. Charbonneau, C. S., Drobney, R. D. & Rabeni, C. F. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on Nontarget Benthic Insects through Direct and Indirect Exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* **13**, 267–279 (1994).
246. Hershey, A. E., Lima, A. R., Niemi, G. J. & Regal, R. R. Effects of *Bacillus thuringiensis* israelensis (Bti) and methoprene on nontarget macroinvertebrates in Minnesota wetlands. *Ecol. Appl.* **8**, 41–60 (1998).
247. Niemi, G. J. *et al.* Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects, and birds. *Environ. Toxicol. Chem.* **18**, 549–559 (1999).
248. Epp, L. & Morin, A. 2016 Field Data Collection from Kanata North, Ottawa, Ontario, Canada. Bti Treatment Project. Characterizing the effect of biolarvicide, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Chironomidae in the South March Highlands wetland ecosystem of Ottawa, Onta. <https://kanatanorth.files.wordpress.com/2017/01/chironomidae-bti-report-2016-v1-1.pdf> (2017).
249. Epp, L., Morin, A. & Poulain, A. 2017 Field Data Collection from Kanata North, Ottawa, Ontario, Canada. 2016-2017 Comparisons. Bti Treatment Project Effect of biolarvicide, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Chironomidae in the South March Highlands wetland ecosystem of Ottawa, O. <https://kanatanorth.ca/wp-content/uploads/2019/05/Bti-Chironomidae-Bti-Report-Dec-2017.pdf> (2017).
250. Epp, L., Morin, A. & Poulain, A. 2018 Field Data Collection from Kanata North, Ottawa, Ontario, Canada. 2016-2017-2018 Comparisons. Bti Treatment Project. Effect of biolarvicide, *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Chironomidae in the South March Highlands wetland ecosystem of Ott. <https://kanatanorth.ca/wp-content/uploads/2019/05/KANATA-Chironomidae-Bti-Report-2018.pdf> (2019).
251. Epp, L. J. Assessing the Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Nontarget Chironomidae Emergence. (University of Ottawa, 2020).
252. Vaughan, I. P., Newberry, C., Hall, D. J., Liggett, J. S. & Ormerod, S. J. Evaluating large-scale effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-biting midges

- (Chironomidae) in a eutrophic urban lake. *Freshw. Biol.* **53**, 2117–2128 (2008).
253. Poulin, B. Contrôle des insectes piqueurs : et si les insecticides biologiques tels que le BTI avaient aussi des impacts sur la biodiversité ? Conférence Nature Québec, 6 juin 2019, Montréal QC. <https://www.facebook.com/naturequebec/videos/2018526161589516/> (2019).
254. Allgeier, S. Mosquito control based on *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) - Ecological effects on wetland food chains and public acceptance of control alternatives - Stechmückenbekämpfung mit *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) – ökologische Effekte auf die. (University of Koblenz-Landau, 2019).
255. Liber, K., Schmude, K. L. & Rau, D. M. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to chironomids in pond mesocosms. *Ecotoxicology* **7**, 343–354 (1998).
256. Caquet, T., Roucaute, M., Le Goff, P. & Lagadic, L. Effects of repeated field applications of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **74**, 1122–1130 (2011).
257. Stief, P. & Eller, G. The gut microenvironment of sediment-dwelling *Chironomus plumosus* larvae as characterised with O₂, pH, and redox microsensors. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* **176**, 673–683 (2006).
258. Russell, T. L., Kay, B. H. & Skilleter, G. A. Environmental effects of mosquito insecticides on saltmarsh invertebrate fauna. *Aquat. Biol.* **6**, 77–90 (2009).
259. Babin, A., Nawrot-Esposito, M.-P., Gallet, A., Gatti, J.-L. & Poirié, M. Adverse effects of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide on non-target *Drosophila* species. *bioRxiv Prepr. first posted online Feb. 8, 2019 (which was not peer-reviewed)* (2019).
260. Pereira Dornelas, A. S. *et al.* Toxicity of microbial insecticides toward the non-target freshwater insect *Chironomus xanthus*. *Pest Manag. Sci.* **76**, 1164–1172 (2020).
261. Gutiérrez, Y., Ramos, G. S., Tomé, H. V. V., Oliveira, E. E. & Salaro, A. L. Bti-based insecticide enhances the predatory abilities of the backswimmer *Buenoa tarsalis* (Hemiptera: Notonectidae). *Ecotoxicology* **26**, 1147–1155 (2017).
262. Ren, Z., Ma, E. & Guo, Y. Chromosome aberration assays for the study of cyclophosphamide and *Bacillus thuringiensis* in *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acrididae). *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **520**, 141–150 (2002).
263. Jackson, J. K. *et al.* Effects of *Bacillus thuringiensis israelensis* on Black Flies and Nontarget Macroinvertebrates and Fish in a Large River Effects of *Bacillus thuringiensis*

- israelensis on Black Flies. *Trans. Am. Fish. Soc.* **131**, 910–930 (2002).
264. Fourcy, D., Jumel, A., Heydorff, M. & Lagadic, L. Esterases as biomarkers in *Nereis* (Hediste) diversicolor exposed to temephos and *Bacillus thuringiensis* var. israelensis used for mosquito control in coastal wetlands of Morbihan (Brittany, France). *Mar. Environ. Res.* **54**, 755–759 (2002).
 265. Fang, J. A World Without Mosquitos. *Nature* **466**, 432–434 (2010).
 266. Pfitzner, W. P., Beck, M., Weitzel, T. & Becker, N. The Role of Mosquitoes in the Diet of Adult Dragon and Damselflies (Odonata). *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **31**, 187–189 (2015).
 267. Wipfli, M. S. & Merritt, R. W. Disturbance to a stream food web by a bacterial larvicide specific to black flies: Feeding responses of predatory macroinvertebrates. *Freshw. Biol.* **32**, 91–103 (1994).
 268. Collen, B. *et al.* *Spineless: status and trends of the world's invertebrates*. Zoological Society of London, United Kingdom (2012).
 269. Dirzo, R. *et al.* Defaunation in the Anthropocene. *Science* (80-.). **345**, 401–406 (2014).
 270. Jarvis, B. The Insect Apocalypse Is Here - The New York Times Magazine. *The New York Times* <https://www.nytimes.com/2018/11/27/magazine/insect-apocalypse.html> (2018).
 271. Sánchez-Bayo, F. & Wyckhuys, K. A. G. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biol. Conserv.* **232**, 8–27 (2019).
 272. Bijleveld van Lexmond, M., Bonmatin, J.-M., Goulson, D. & Noome, D. A. Worldwide integrated assessment on systemic pesticides. Global collapse of the entomofauna: exploring the role of systemic insecticides Maarten Bijleveld van Lexmond & Jean-Marc Bonmatin & Dave Goulson & Dominique A. Noome. *Env. Sci Pollut Res* DOI 10.1007/s11356-014-3220-1 (2014).
 273. Vogel, G. Where Have All the insects Gone? *Science* (80-.). **356**, 576–579 (2017).
 274. Sorg, M., Schwan, H., Stenmans, W. & Müller, A. Ermittlung der Biomassen flugaktiver Insekten im Naturschutzgebiet Orbroicher Bruch mit Malaise Fallen in den Jahren 1989 und 2013. *Mitteilungen aus dem Entomol. Verein Krefeld* **1**, 1–5 (2013).
 275. Sorg, M., Schwan, H., Stenmans, W. & Müller, A. Investigation of the Biomass of flying insects in the Orbroich Bruch Nature Reserve using Malaise Traps in the years 1989 and 2013. *Rep. Proc. Krefeld Entomol. Soc.* **1**, 1–5 (2013).
 276. Hallmann, C. A. *et al.* More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect

- biomass in protected areas. *PLoS One* **12**, e0185809 (2017).
277. Seibold, S. *et al.* Arthropod decline in grasslands and forests is associated with drivers at landscape level. *Nature* **574**, 1–34 (2019).
 278. Baranov, V., Jourdan, J., Pilotto, F., Wagner, R. & Haase, P. Complex and nonlinear climate-driven changes in freshwater insect communities over 42 years. *Conserv. Biol.* **cobi.13477** (2020) doi:10.1111/cobi.13477.
 279. Møller, A. P. Parallel declines in abundance of insects and insectivorous birds in Denmark over 22 years. *Ecol. Evol.* **9**, 6581–6587 (2019).
 280. Lister, B. C. & Garcia, A. Climate-driven declines in arthropod abundance restructure a rainforest food web. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, E10397–E10406 (2018).
 281. Colla, S. R. & Packer, L. Evidence for decline in eastern North American bumblebees (Hymenoptera: Apidae), with special focus on *Bombus affinis* Cresson. *Biodivers. Conserv.* **17**, 1379–1391 (2008).
 282. Wepprich, T., Adrion, J. R., Ries, L., Wiedmann, J. & Haddad, N. M. Butterfly abundance declines over 20 years of systematic monitoring in Ohio, USA. *PLoS One* **14**, e0216270 (2019).
 283. Cardoso, P. *et al.* Scientists' warning to humanity on insect extinctions. *Biol. Conserv.* **242**, 108426 (2020).
 284. Klink, R. van *et al.* Meta-analysis reveals declines in terrestrial but increases in freshwater insect abundances. *Science (80-.)*. **368**, 417–420 (2020).
 285. Pauly, D. Anecdotes and the shifting baseline syndrome of fisheries. *Trends in Ecology & Evolution* vol. 10 430 (1995).
 286. Soga, M. & Gaston, K. J. Shifting baseline syndrome: causes, consequences, and implications. *Front. Ecol. Environ.* **16**, 222–230 (2018).
 287. Cabrera, P., Cormier, D. & Lucas, E. Sublethal effects of two reduced-risk insecticides: when the invasive ladybeetle is drastically affected, whereas the indigenous not .pdf. *J. Pest Sci. (2004)*. (2018) doi:10.1007/s10340-018-0978-9.
 288. GDG Environnement. *Impact des traitements au Bti sur la faune compagne non-cible. À l'intention du Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs du Québec.* (2018).
 289. Williams, D. D. *The Biology of Temporary Waters.* (Oxford University Press, 2006). doi:10.1093/acprof:oso/9780198528128.001.0001.
 290. Kroeger, I., Duquesne, S. & Liess, M. Crustacean biodiversity as an important factor for

- mosquito larval control. *J. Vector Ecol.* **38**, 390–400 (2013).
291. Kroeger, I., Liess, M., Dziock, F. & Duquesne, S. Sustainable control of mosquito larvae in the field by the combined actions of the biological insecticide Bti and natural competitors. *J. Vector Ecol.* **38**, 82–89 (2013).
292. Milam, C. D., Farris, J. L. & Wilhide, J. D. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **39**, 324–328 (2000).
293. Olmo, C., Marco, A., Armengol, X. & Ortells, R. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on nonstandard microcrustacean species isolated from field zooplankton communities. *Ecotoxicology* **25**, 1730–1738 (2016).
294. Duchet, C. *et al.* Effects of spinosad and *Bacillus thuringiensis israelensis* on a natural population of *Daphnia pulex* in field microcosms. *Chemosphere* **74**, 70–77 (2008).
295. Duchet, C., Caquet, T., Franquet, E., Lagneau, C. & Lagadic, L. Influence of environmental factors on the response of a natural population of *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) to spinosad and *Bacillus thuringiensis israelensis* in Mediterranean coastal wetlands. *Environ. Pollut.* **158**, 1825–1833 (2010).
296. Duchet, C., Coutellec, M. A., Franquet, E., Lagneau, C. & Lagadic, L. Population-level effects of spinosad and *Bacillus thuringiensis israelensis* in *Daphnia pulex* and *Daphnia magna*: Comparison of laboratory and field microcosm exposure conditions. *Ecotoxicology* **19**, 1224–1237 (2010).
297. Aguilar-Alberola, J. A. *Heterocypris bosniaca*. Ecología y ontogenia de un ostrácodo (Crustacea: Ostracoda) de pozas temporales. (Departament de Microbiologia i Ecologia; Universitat de València, 2013).
298. Aguilar-Alberola, J. A. & Mesquita-Joanes, F. Acute toxicity tests with Cadmium, Lead, Sodium Dodecyl Sulfate, and *Bacillus thuringiensis* on a temporary pond ostracod. *Int. Rev. Hydrobiol.* **97**, 375–388 (2012).
299. MEADOWS, J., GILL, S. S. & BONE, L. W. *Bacillus thuringiensis* strains affect population growth of the free-living nematode *Turbatrix aceti*. *Invertebr. Reprod. Dev.* **17**, 73–76 (1990).
300. Mansouri, M., Bendali-Saoudi, F., Benhamed, D. & Soltani, N. Effect of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* against *Culex pipiens* (insecta: Culicidae). Effect of Bti on two non-target species *Eylais hamata* (Acari: Hydrachnidia) and *Physa marmorata* (Gastropoda: physidae) and Dosage of their GST biomarker. *Annals of Biological Research*

vol. 4 85–92

[https://www.researchgate.net/profile/Nouredine_Soltani/publication/259459190_MANSOURI_M_BENDALI-](https://www.researchgate.net/profile/Nouredine_Soltani/publication/259459190_MANSOURI_M_BENDALI-SAOUDI_F_BENHAMED_D_SOLTANI_N_2013_Effect_of_Bacillus_thuringiensis_var_israelensis_against_Culex_pipiens_Insecta_Culicidae_Effect_of_Bti_on_two_non-target_sp)

[SAOUDI_F_BENHAMED_D_SOLTANI_N_2013_Effect_of_Bacillus_thuringiensis_var_israelensis_against_Culex_pipiens_Insecta_Culicidae_Effect_of_Bti_on_two_non-target_sp](https://www.researchgate.net/profile/Nouredine_Soltani/publication/259459190_MANSOURI_M_BENDALI-SAOUDI_F_BENHAMED_D_SOLTANI_N_2013_Effect_of_Bacillus_thuringiensis_var_israelensis_against_Culex_pipiens_Insecta_Culicidae_Effect_of_Bti_on_two_non-target_sp) (2013).

301. Bittel, J. Mussel pain: The crisis engulfing our freshwater molluscs. *New scientist* 20–24 <https://www.newscientist.com/article/mg23731682-300-mussel-pain-the-crisis-engulfing-our-freshwater-molluscs/> (2018).
302. Douville, M., Gagné, F., André, C. & Blaise, C. Occurrence of transgenic corn cry1Ab gene in freshwater mussels (*Elliptio complanata*) near corn fields evidence of exposure through feeding of bacteria. *Ecotoxicol Env. Saf.* **72**, 17–25 (2009).
303. Rodrigue, D. & Desroches, J.-F. *Amphibiens et reptiles du Québec et des Maritimes - Édition revue et augmentée*. (Guides Nature Quintin, 2018).
304. MFFP. Liste des espèces désignées comme menacées. <https://mffp.gouv.qc.ca/la-faune/especes/liste-especes-vulnerables/> (2006).
305. Whittaker, K., Koo, M. S., Wake, D. B. & Vredenburg, V. T. Global Declines of Amphibians. in *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition* (ed. Levin, S. A. (ed. .) vol. 3 691–699 (Academic Press, 2013).
306. Greenberg, D. A. & Palen, W. J. A deadly amphibian disease goes global. *Science* (80-.). **363**, 1386–1388 (2019).
307. Scheele, B. C. *et al.* Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* **363**, 1459–1463 (2019).
308. Blaustein, A. R. *et al.* The complexity of amphibian population declines: Understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1223**, 108–119 (2011).
309. Warne, R. W., Crespi, E. J. & Brunner, J. L. Escape from the pond: Stress and developmental responses to ranavirus infection in wood frog tadpoles. *Funct. Ecol.* **25**, 139–146 (2011).
310. Catenazzi, A. State of the World's Amphibians. *Annu. Rev. Environ. Resour* **40**, 91–119 (2015).
311. Baker, N. J., Bancroft, B. A. & Garcia, T. S. A meta-analysis of the effects of pesticides and

- fertilizers on survival and growth of amphibians (with corrigendum). *Sci. Total Environ.* **449**, 150–156 (2013).
312. Gendron, A. Amphibian Ecotoxicology. in *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology* (eds. Férard, J.-F. & Blaise, C.) 241–243 (Springer, Dordrecht, 2013).
doi:<https://doi.org/10.1007/978-94-007-5704-2>.
313. Gendron, A. D. *et al.* Exposure of leopard frogs to a pesticide mixture affects life history characteristics of the lungworm *Rhabdias ranae*. *Oecologia* **135**, 469–476 (2003).
314. CWHC. Première documentation d'infections fatales par un Ranavirus chez des amphibiens au Québec - Healthy Wildlife. *Healthy Wildlife (CWHC)* 2018-09–13
<http://blog.healthywildlife.ca/premiere-documentation-dinfections-fatales-par-un-ranavirus-chez-des-amphibiens-au-quebec/> (2018).
315. Pochini, K. M. & Hoverman, J. T. Reciprocal effects of pesticides and pathogens on amphibian hosts: The importance of exposure order and timing. *Environ. Pollut.* **221**, 359–366 (2017).
316. Schnetter, W., Engler, S., Morawcsik, J. & Becker, N. Wirksamkeit von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* gegen Stechmückenlarven und Nontarget-Organismen. *Mitteilungen der Dtsch. Gesellschaft fuer Allg. und Angew. Entomol.* **2**, 195–202 (1981).
317. KABS e.V. Amphibien und biologische Stechmückenbekämpfung. Aktualisiert: 22.04.2016
http://www.kabsev.de/1/1_7/1_7_3/ (2016).
318. Scholten, F. Die Wirkung von *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* auf die Embryonal- und Larvalentwicklung ausgewählter Vertreter der einheimischen Anuren und *Xenopus laevis* (Zusammenfassung). *Diplomarbeit*
http://www.kabsev.de/1/1_7/1_7_0/1_7_0_3/Scholten_1991.php (1991).
319. Lefebvre-Raine, M. *et al.* Étude des effets à la santé du biopesticide *Bacillus thuringiensis* sérotype *israelensis* (Bti) chez le crapeau d'Amérique (*Anaxyrus americanus*) et la grenouille des bois (*Lithobates sylvaticus*). (2020).
320. Douglas, A. J., Hug, L. A. & Katzenback, B. A. Composition of the North American wood frog (*Rana sylvatica*) skin microbiome and seasonal variation in community structure. *Microb. Ecol.* (2020) doi:10.1101/2020.01.28.921544.
321. Rebollar, E. A., Martínez-Ugalde, E. & Orta, A. H. The amphibian skin microbiome and its protective role against chytridiomycosis. *Herpetologica* **76**, 167–177 (2020).
322. Ouellet, M., Mikaelian, I., Pauli, B. D., Rodrigue, J. & Green, D. M. Historical Evidence of

- Widespread Chytrid Infection in North American Amphibian Populations. *Conserv. Biol.* **19**, 1431–1440 (2005).
323. Pauley, L. R., Earl, J. E. & Semlitsch, R. D. Ecological Effects and Human Use of Commercial Mosquito Insecticides in Aquatic Communities. *J. Herpetol.* **49**, 28–35 (2015).
324. GDG Environnement. Résumé et analyse de l'article « Lajmanovich et al 2015 Toxicity Bti... ». 4 (2016).
325. GDG Environnement. *Le contrôle biologique des insectes piqueurs - Mise à jour sur le Bti.* (2020).
326. Nilsson, E. E., Sadler-Riggelman, I. & Skinner, M. K. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Environ. Epigenetics* 1–13 (2018) doi:10.1093/eep/dvy016.
327. Groupe de recherche sur les insectes Piqueurs (GRIP) (Leclair R. et al). Progress report to the Metropolitan Mosquito Control District on the Effects of the Insect Control Agent, *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) to some larval Amphibian Species. 38 (1988).
328. Johnson, C. M., Johnson, L. B., Murphy, J. & Beasley, V. *Evaluation of the potential effects of methoprene and Bti on anuran malformations in Wright County, MN - NRRI Technical Report Number: NRRI/TR-2001/01.* <https://d-commons.d.umn.edu/handle/10792/1805> (2001).
329. Tiwari, S., Ghosh, S. K., Mittal, P. K. & Dash, A. P. Effectiveness of a new granular formulation of biolarvicide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against larvae of malaria vectors in India. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* **11**, 69–75 (2011).
330. Allgeier, S., Friedrich, A. & Brühl, C. A. Mosquito control based on *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) interrupts artificial wetland food chains. *Sci. Total Environ.* **686**, 1173–1184 (2019).
331. Leips, J. & Travis, J. Metamorphic Responses to Changing Food Levels in Two Species of Hylid Frogs. *Ecology* **75**, 1345–1356 (1994).
332. Kuzmin, S. L. Food resource allocation in larval newt guilds (genus *Triturus*). *Amphibia-Reptilia* **12**, 293–304 (1991).
333. Formanowicz, D. R. . Anuran Tadpole / Aquatic Insect Predator-Prey Interactions : Tadpole Size and Predator Capture Success. *Herpetologica* **42**, 367–373 (1986).
334. Smith, D. C. Adult Recruitment in Chorus Frogs : Effects of Size and Date at Metamorphosis. *Ecology* **68**, 344–350 (1987).

335. Van Buskirk, J. & Schmidt, B. R. Predator-induced phenotypic plasticity in larval newts: trade-offs, selection, and variation in nature. *Ecology* **81**, 3009–3028 (2000).
336. Relyea, R. A. . The Relationship between Predation Risk and Antipredator Responses in Larval Anurans. *Ecology* **82**, 541–554 (2001).
337. Reeves, M. K., Perdue, M., Blakemore, G. D., Rinella, D. J. & Holyoak, M. Twice as easy to catch? A toxicant and a predator cue cause additive reductions in larval amphibian activity. *Ecosphere* **2**, art72 (2011).
338. Gibbons, J. W. *et al.* Remarkable amphibian biomass and abundance in an isolated wetland: Implications for wetland conservation. *Conserv. Biol.* **20**, 1457–1465 (2006).
339. Moreau (GDG), S. Mise à jour sur l'utilisation d'un larvicide (Bti) dans la lutte contre les insectes piqueurs. *In Vivo (Brooklyn)*. **40**, 12–15 (2020).
340. Hurst, T. P., Kay, B. H., Ryan, P. A. & Brown, M. D. Sublethal effects of mosquito larvicides on swimming performance of larvivorous fish *Melanotaenia duboulayi* (Atheriniformes: Melanotaeniidae). *J. Econ. Entomol.* **100**, 61–5 (2007).
341. Sternberg, M., Grue, C., Conquest, L., Grassley, J. & King, K. Efficacy, fate, and potential effects on salmonids of mosquito larvicides in catch basins in Seattle, Washington. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **28**, 206–18 (2012).
342. Fortin, C., Lapointe, D. & Charpentier, C. Susceptibility of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) Fry to a Liquid Formulation of *Bacillus thuringiensis* serovar. israelensis (Teknar®) Used for Blackfly Control. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**, 1667–1670 (1986).
343. Hayashi, M. The micronucleus test-most widely used in vivo genotoxicity test. *Genes Environ.* **38**, 4–9 (2016).
344. Grisolia, C. K. *et al.* Genotoxic evaluation of different δ -endotoxins from *Bacillus thuringiensis* on zebrafish adults and development in early life stages. *Mutat. Res. - Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **672**, 119–123 (2009).
345. Grisolia, C. K. *et al.* Acute toxicity and cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains on fish and mouse bone marrow. *Ecotoxicology* **18**, 22–26 (2009).
346. Freire, I. S. *et al.* Genotoxic evaluation in *Oreochromis niloticus* (Fish: Characidae) of recombinant spore-crystal complexes Cry1Ia, Cry10Aa and Cry1Ba6 from *Bacillus thuringiensis*. *Ecotoxicology* **23**, 267–272 (2014).
347. La Violette, N., Fournier, D., Dumont, P. & Mailhot, Y. *Caractérisation des communautés de poissons et développement d'un indice d'intégrité biotique pour le fleuve Saint-*

Laurent, 1995-1997. (2003).

348. Pêches et Océans Canada (MPO). *Programme de rétablissement du dard de sable (Ammocrypta pellucida), populations du Québec au Canada, Série des programmes de rétablissement de la Loi sur les espèces en péril*. (Pêches et Océans Canada, Ottawa, 2014).
349. Nebel, S., Mills, A., McCracken, J. D. & Taylor, P. D. Declines of aerial insectivores in North America follow a geographic gradient. *Avian Conserv. Ecol.* **5**, 1 (2010).
350. Michel, N. L., Smith, A. C., Clark, R. G., Morrissey, C. A. & Hobson, K. A. Differences in spatial synchrony and interspecific concordance inform guild-level population trends for aerial insectivorous birds. *Ecography (Cop.)*. **39**, 774–786 (2016).
351. Stanton, R. L., Morrissey, C. A. & Clark, R. G. Analysis of trends and agricultural drivers of farmland bird declines in North America: A review. *Agric. Ecosyst. Environ.* **254**, 244–254 (2018).
352. Initiative de conservation des oiseaux de l'Amérique du Nord (ICOAN). L'état des populations d'oiseaux du Canada. *ICOAN Canada* www.etatdesoiseauxcanada.org (2019).
353. Rosenberg, K. V *et al.* Decline of the North American avifauna. *Science (80-.)*. **eaaw1313**, 1–10 (2019).
354. Initiative de conservation des oiseaux de l'Amérique du Nord (ICOAN). État des populations d'oiseaux du Canada, 2012. 36 pp (2012).
355. Aronson, M. F. J. *et al.* A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers. *Proceedings R. Soc. B* **281**, 20133330 (2014).
356. Kilpatrick, A. M. & Wheeler, S. S. Impact of West Nile Virus on Bird Populations: Limited Lasting Effects, Evidence for Recovery, and Gaps in Our Understanding of Impacts on Ecosystems. *J. Med. Entomol.* **56**, 1491–1497 (2019).
357. Kain, M. P. & Bolker, B. M. Predicting West Nile virus transmission in North American bird communities using phylogenetic mixed effects models and eBird citizen science data. *Parasites and Vectors* **12**, 1–22 (2019).
358. Talbot, B., Ardis, M. & Kulkarni, M. A. Influence of Demography, Land Use, and Urban Form on West Nile Virus Risk and Human West Nile Virus Incidence in Ottawa, Canada. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* **19**, 533–539 (2019).
359. Talbot, B., Caron-Lévesque, M., Ardis, M., Kryuchkov, R. & Kulkarni, M. A. Linking Bird and Mosquito Data to Assess Spatiotemporal West Nile Virus Risk in Humans. *Ecohealth* **16**,

- 70–81 (2019).
360. Smith, A. C., Hudson, M.-A. R., Downes, C. M. & Francis, C. M. Change Points in the Population Trends of Aerial-Insectivorous Birds in North America: Synchronized in Time across Species and Regions. *PLoS One* **10**, e0130768 (2015).
361. Gouvernement du Canada. Liste des espèces en péril, Annexe 1 - Loi sur les espèces en péril. <https://laws.justice.gc.ca/fra/lois/S-15.3/page-17.html#h-425427> (2019).
362. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC). Espèces sauvages candidates du COSEPAC. *Cosewic / Cosepac* <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/especes-peril-loi-accord-financement/processus-inscription/especes-sauvages-modification-liste-annexe-1.html> (2019).
363. Hallmann, C. a. *et al.* Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature* **511**, 341–343 (2014).
364. Jensen, O. P. Pesticide impacts through aquatic food webs. *Science* **366**, 566–567 (2019).
365. St. Louis, V. L., Breebaart, L. & Barlow, J. C. Foraging behaviour of Tree Swallows over acidified and nonacidic lakes. *Can. J. Zool.* **68**, 2385–2392 (1990).
366. Imlay, T. L., Mann, H. A. R. & Leonard, M. L. No effect of insect abundance on nestling survival or mass for three. *Avian Conserv. Ecol.* **12**, 19 (4–13) (2017).
367. Imlay, T. L., Flemming, J. M., Saldanha, S., Wheelwright, N. T. & Leonard, M. L. Breeding phenology and performance for four swallows over 57 years : relationships with temperature and precipitation. *Ecosphere* **9**, e02166 (2018).
368. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur L'Hirondelle de rivage (Riparia riparia) au Canada*. (Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, 2013).
369. Foucart, S. Les oiseaux disparaissent des campagnes françaises à une « vitesse vertigineuse ». *Le Monde* http://www.lemonde.fr/biodiversite/article/2018/03/20/les-oiseaux-disparaissent-des-campagnes-francaises-a-une-vitesse-vertigineuse_5273420_1652692.html#WU1KpJoJPKk71pvo.99 (2018).
370. Gauthier, J. & Aubry, Y. *Les oiseaux nicheurs du Québec : Atlas des oiseaux nicheurs du Québec méridional*. (Association québécoise des groupes d'ornithologues, Société québécoise de protection des oiseaux, Service canadien de la faune, Environnement Canada, région du Québec, Montréal, 1995).
371. Nocera, J. J. *et al.* Historical pesticide applications coincided with an altered diet of

- aerially foraging insectivorous chimney swifts. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **279**, 3114–3120 (2012).
372. Hanowski, J. M., Niemi, G. J., Lima, A. R. & Regal, R. R. Do Mosquito Control Treatments of Wetlands Affect Red-Winged Blackbird (*Agelaius Phoeniceus*) Growth, Reproduction, or Behavior? *Environ. Toxicol. Chem.* **16**, 1014–1019 (1997).
373. Hanowski, J. M., Niemi, G. J., Lima, A. R. & Regal, R. R. Response of breeding birds to mosquito control treatments of wetlands. *Wetlands* **17**, 485–492 (1997).
374. Bellavance, V., Bélisle, M., Savage, J., Pelletier, F. & Garant, D. Influence of agricultural intensification on prey availability and nestling diet in Tree Swallows (*Tachycineta bicolor*). *Can. J. Zool.* preprint (2018).
375. Blancher, P. J. & McNicol, D. K. Tree swallow diet in relation to wetland acidity. *Can. J. Zool.* **69**, 2629–2637 (1991).
376. Environnement Canada (EC). *Programme de rétablissement de l'Engoulevent d'Amérique (Chordeiles minor) au Canada. Série de Programmes de rétablissement de la Loi sur les espèces en péril*. http://publications.gc.ca/collections/collection_2016/ecccc/En3-4-234-2016-fra.pdf (2016).
377. Environnement Canada (EC). *Programme de rétablissement de l' Engoulevent bois-pourri (Antrostomus vociferus) au Canada*. http://www.registrelep-sararegistry.gc.ca/document/default_f.cfm?documentID=2736 (2015).
378. Poulin, B., Lefebvre, G. & Paz, L. Red flag for green spray: adverse trophic effects of Bti on breeding birds. *J. Appl. Ecol.* **47**, 884–889 (2010).
379. Schrauth, F. E. & Wink, M. Changes in species composition of birds and declining number of breeding territories over 40 years in a nature conservation area in southwest Germany. *Diversity* **10**, (2018).
380. Pinder, L. C. V. Biology of Freshwater Chironomidae. *Ann. Rev. Entomol.* **31**, 1–23 (1986).
381. Raunio, J., Heino, J. & Paasivirta, L. Non-biting midges in biodiversity conservation and environmental assessment: Findings from boreal freshwater ecosystems. *Ecol. Indic.* **11**, 1057–1064 (2011).
382. Robert, M., Hachey, M.-H., Lepage, D. & Couturier, A. R. *Deuxième atlas des oiseaux nicheurs du Québec méridional*. (Regroupement QuébecOiseaux, Service canadien de la faune (Environnement et Changement climatique Canada), Études d'oiseaux Canada, 2019).

383. Dessborn, L., Elmberg, J., Nummi, P., Pöysä, H. & Sjöberg, K. Hatching in dabbling ducks and emergence in chironomids: A case of predator-prey synchrony? *Hydrobiologia* **636**, 319–329 (2009).
384. Hansson, L.-A. *et al.* Experimental evidence for a mismatch between insect emergence and waterfowl hatching under increased spring temperatures. *Ecosphere* **5**, 1–9 (2014).
385. Holopainen, S. *et al.* Habitat use in ducks breeding in boreal freshwater wetlands: a review. *Eur. J. Wildl. Res.* **61**, 339–363 (2015).
386. Mazzacano, C. & Black, S. H. *Ecologically Sound Mosquito Management in Wetlands. An Overview of Mosquito Control Practices, the Risks, Benefits, and Nontarget Impacts, and Recommendations on Effective Practices that Control Mosquitoes, Reduce Pesticide Use, and Protect Wetlands. The Xerces Society for Invertebrate Conservation* (The Xerces Society for Invertebrate Conservation, 2013).
387. Gunnarsson, G., Elmberg, J., Sjöberg, K., Pöysä, H. & Nummi, P. Why are there so many empty lakes? Food limits survival of mallard ducklings. *Can. J. Zool.* **82**, 1698–1703 (2004).
388. COSEPAC. *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur L'Arlequin plongeur *Histrionicus histrionicus* Population de l'Est au Canada*. (Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa., 2013).
389. Gouvernement du Canada. Loi sur les espèces en péril. Annexe 1. Liste des espèces en péril. *Gouvernement du Canada - Site Web de la législation (Justice)* <https://laws.justice.gc.ca/fra/lois/S-15.3/page-17.html#h-425427>.
390. Robert, M. & Cloutier, L. Summer food habits of Harlequin ducks in eastern North America. *Wilson Bull.* **113**, 78–84 (2001).
391. Bengtson, A. S., Ornis, S. & Scandinavian, S. Breeding Ecology of the Harlequin Duck *Histrionicus histrionicus* (L .) in Iceland. *Ornis Scand. (Scandinavian J. Ornithol.* **3**, 1–19 (1972).
392. Environnement Canada. *Plan de gestion du Garrot d'Islande (*Bucephala islandica*), population de l'Est, au Canada [Proposition]. Série de Plans de gestion de la Loi sur les espèces en péril.* https://www.sararegistry.gc.ca/virtual_sara/files/plans/mp_barrow%27s_goldeneye_eartern_population_f.pdf (2011).
393. Einarsson, Á. Distribution and movements of Barrow's Goldeneye *Bucephala islandica*

- young in relation to food. *Ibis (Lond. 1859)*. **130**, 153–163 (1988).
394. Eadie, J. M., Savard, J.-P. L. & Mallory, M. L. Barrow's Goldeneye - *Bucephala islandica* - Birds of the World. *Birds of the world*
<https://birdsoftheworld.org/bow/species/bargol/1.0/introduction> (2000).
395. Drilling, N., Titman, R. D. & McKinney, F. Mallard (*Anas platyrhynchos*). *The Birds of North America Online (Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA)* <https://birdsna.org/Species-Account/bna/species/mallar3/introduction> (2018) doi:10.2173/bna.mallar3.01.1.
396. LeSchack, C. R., McKinght, S. K. & Hepp, G. R. Gadwall (*Anas strepera*). *Birds North Am. Online (Cornell Lab Ornithol. Ithaca, NY, USA)* (1997) doi:10.2173/bna.283.
397. Pimm, S. L. Complexity and Stability: Another Look at MacArthur's Original Hypothesis. *Oikos* **33**, 351 (1979).
398. Pimm, S. L. Food Web Design and the Effect of Species Deletion. *Oikos* **35**, 139 (1980).
399. Landi, P., Minoarivelo, H. O., Brännström, Å., Hui, C. & Dieckmann, U. Complexity and stability of ecological networks: a review of the theory. *Population Ecology* vol. 60 319–345 (2018).
400. Loreau, M. & de Mazancourt, C. Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecol. Lett.* **16**, 106–115 (2013).
401. Dakos, V., Carpenter, S. R., van Nes, E. H. & Scheffer, M. Resilience indicators: prospects and limitations for early warnings of regime shifts. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **370**, 20130263–20130263 (2014).
402. Jacquet, C. *et al.* No complexity–stability relationship in empirical ecosystems. *Nat. Commun.* **7**, 12573 (2016).
403. Kuiper, J. J. *et al.* Food-web stability signals critical transitions in temperate shallow lakes. *Nat. Commun.* **6**, 7727 (2015).
404. Heleno, R. H., Ripple, W. J. & Traveset, A. Scientists' warning on endangered food webs. *Web Ecol.* **20**, 1–10 (2020).
405. Les espèces de chauves-souris du Québec. *Chauves-souris aux abris - CSBQ*
<https://chauve-souris.ca/les-especes-de-chauves-souris-du-quebec> (2017).
406. Environnement Canada (EC). *Programme de rétablissement de la petite chauve-souris brune (Myotis lucifugus), de la chauve-souris nordique (Myotis septentrionalis) et de la pipistrelle de l'Est (Perimyotis subflavus) au Canada [proposition]*. (2015).
407. Mineau, P. & Callaghan, C. Neonicotinoid insecticides and bats: an assessment of the

- direct and indirect risks. 87 http://cwf-fcf.org/en/resources/research-papers/1809-014-Bats-and-Neonics-Report-high_rez.pdf (2018).
408. Henry, M., Thomas, D. W., Vaudry, R. & Carrier, M. Foraging distances and home range of pregnant and lactating little brown bats (*Myotis lucifugus*). *J. Mammal.* **83**, 767–774 (2002).
 409. Mezzomo, B. P., Miranda-Vilela, A. L., Pereira Barbosa, L. C., Albernaz, V. L. & Grisolia, C. K. Hematotoxicity and Genotoxicity Evaluations in Swiss Mice Intraperitoneally Exposed to *Bacillus thuringiensis* (var *kurstaki*) Spore Crystals Genetically Modified to Express Individually Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, or Cry2Aa. *Environ. Toxicol.* **31**, 970–978 (2015).
 410. Curbelo, A. *et al.* Assessment of the *in vivo* genotoxicity of a new formulation of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* SH-14. *Toxicol. Environ. Chem.* **93**, 691–699 (2011).
 411. Curbelo, A. V. *et al.* In vivo Genotoxic Evaluation of Biological and Organic Pesticides and Fertilizers. *Sci. Int.* **1**, 98–102 (2013).
 412. Freire, I. D. S. *et al.* Evaluation of cytotoxicity, Genotoxicity and hematotoxicity of the recombinant spore-crystal complexes Cry1Ia, Cry10Aa and Cry1Ba6 from *Bacillus thuringiensis* in swiss mice. *Ecotoxicology* **23**, 267–272 (2014).
 413. Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM). *Risk assessment of the biological plant protection product Turex 50 WG, with the organism Bacillus thuringiensis ssp. aizawai CG-91. Opinion of the Panel of Plant Protection Products of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety. VKM Report 2016: .* (2016).
 414. Gonsalves, L., Lamb, S., Webb, C., Law, B. & Monamy, V. Do mosquitoes influence bat activity in coastal habitats? *Wildl. Res.* **40**, 10–24 (2013).
 415. Gonsalves, L., Law, B., Webb, C. & Monamy, V. Foraging Ranges of Insectivorous Bats Shift Relative to Changes in Mosquito Abundance. *PLoS One* **8**, e64081 (2013).
 416. Rainey, W. E., Power, M. E. & Clinton, S. *Temporal and spatial variation in aquatic insect emergence and bat activity in a restored floodplain wetland.* <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Temporal+and+spatial+variation+in+aquatic+insect+emergence+and+bat+activity+in+a+restored+floodplain+wetland#0> (2006).
 417. Clare, E. L. *et al.* The diet of *Myotis lucifugus* across Canada: Assessing foraging quality and diet variability. *Mol. Ecol.* **23**, 3618–3632 (2014).
 418. Clare, E. L., Barber, B. R., Sweeney, B. W., Hebert, P. D. N. & Fenton, M. B. Eating local:

- Influences of habitat on the diet of little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Mol. Ecol.* **20**, 1772–1780 (2011).
419. Wray, A. K. *et al.* Incidence and taxonomic richness of mosquitoes in the diets of little brown and big brown bats. *J. Mammal.* **3**, 668–674 (2018).
 420. Clare, E. L., Symondson, W. O. C. & Fenton, M. B. An inordinate fondness for beetles? Variation in seasonal dietary preferences of night-roosting big brown bats (*Eptesicus fuscus*). *Mol. Ecol.* **23**, 3633–3647 (2014).
 421. Clare, E. L., Fraser, E. E., Braid, H. E., Fenton, M. B. & Hebert, P. D. N. Species on the menu of a generalist predator, the eastern red bat (*Lasiurus borealis*): Using a molecular approach to detect arthropod prey. *Mol. Ecol.* **18**, 2532–2542 (2009).
 422. Reimer, J. P. & Baerwald, E. F. Diet of Hoary (*Lasiurus cinereus*) and Silver-haired (*Lasionycteris noctivagans*) Bats While Migrating Through Southwestern Alberta in Late Summer and Autumn. *Am. Midl. Nat.* **164**, 230–237 (2009).
 423. Encarnação, J. A. & Dietz, M. Estimation of food intake and ingested energy in Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*) during pregnancy and spermatogenesis. *Eur. J. Wildl. Res.* **52**, 221–227 (2006).
 424. Arnold, A., Scholz, A., Storch, V. & Braun, M. Zur Raauhautfledermaus (*Pipistrellus nathusii* Keyserling & Blasius, 1839) in den nordbadischen Rheinauen. *Carolinea* **54**, 149–158 (1996).
 425. Arnold, A., Braun, M., Becker, N. & Storch, V. Beitrag zur Ökologie der Wasserfledermaus (*Myotis daubentonii*) in Nordbaden. *Carolinea* **56**, 103–110 (1998).
 426. Arnold, A., Braun, M., Becker, N. & Storch, V. Zur Nahrungsökologie von Wasser- und Raauhautfledermaus in den nordbadischen Rheinauen. *Carolinea* **58**, 257–263 (2000).
 427. Vesterinen, E. J., Lilley, T., Laine, V. N. & Wahlberg, N. Next generation sequencing of fecal DNA reveals the dietary diversity of the widespread insectivorous predator Daubenton's bat (*Myotis daubentonii*) in southwestern Finland. *PLoS One* **8**, 1–14 (2013).
 428. Vesterinen, E. J. *et al.* What you need is what you eat? Prey selection by the bat *Myotis daubentonii*. *Mol. Ecol.* **25**, 1581–1594 (2016).
 429. Vesterinen, E. J., Puisto, A. I. E., Blomberg, A. S. & Lilley, T. M. Table for five, please: Dietary partitioning in boreal bats. *Ecol. Evol.* 10914–10937 (2018)
doi:10.1002/ece3.4559.
 430. de Jong, J. & Ahlén, I. Factors Affecting the Distribution Pattern of Bats in Uppland ,

- Central Sweden. *Holarct. Ecol.* **14**, 92–96 (1991).
431. Vaughan, N. The diets of British bats (Chiroptera). *Mamm. Rev.* **27**, 77–94 (1997).
 432. Fayolle, S., Bertrand, C., Logez, M. & Franquet, É. Corrigendum: Does mosquito control by Bti spraying affect the phytoplankton community? A 5-year study in Camargue temporary wetlands (France). *Ann. Limnol. - Int. J. Limnol.* **52**, 1–11 (2016).
 433. Koskella, J. & Stotzky, G. Larvicidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *morrisoni* (strain *tenebrionis*), and *israelensis* have no microbicidal or microbiostatic activity against selected bacteria, fungi, and algae in vitro. *Can.J.Microbiol.* **48**, 262–267 (2002).
 434. Östman, Ö., Lundström, J. O. & Vinnersten, T. Z. P. Effects of mosquito larvae removal with *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) on natural protozoan communities. *Hydrobiologia* **607**, 231–235 (2008).
 435. Duguma, D. *et al.* Microbial communities and nutrient dynamics in experimental microcosms are altered after the application of a high dose of Bti. *J. Appl. Ecol.* **52**, 763–773 (2015).
 436. Su, T. & Mulla, M. S. Microbial agents *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* suppress eutrophication, enhance water quality, and control mosquitoes in microcosms. *Environ. Entomol.* **28**, 761–767 (1999).
 437. Wang, J. *et al.* Green algae (*Chlorella pyrenoidosa*) adsorbs *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin, Cry1Ca insecticidal protein, without an effect on growth. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **106**, 6–10 (2014).
 438. Negri, A. P., Soo, R. M., Flores, F. & Webster, N. S. *Bacillus* Insecticides are not Acutely Harmful to Corals and Sponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **381**, 157–165 (2009).
 439. Tetreau, G. *et al.* Bacterial microbiota of *Aedes aegypti* mosquito larvae is altered by intoxication with *Bacillus thuringiensis israelensis*. *Parasites and Vectors* **11**, 121 (2018).
 440. Tabashnik, B. E., Van Rensburg, J. B. J. & Carrière, Y. Field-Evolved Insect Resistance to Bt Crops : Definition , Theory , and Data Field-Evolved Insect Resistance to Bt Crops : Definition , Theory ,. *J. Econ. Entomol* **102**, 2011–2025 (2009).
 441. Bonin, A. *et al.* The genetic architecture of a complex trait: Resistance to multiple toxins produced by *Bacillus thuringiensis israelensis* in the dengue and yellow fever vector, the mosquito *Aedes aegypti*. *Infect. Genet. Evol.* **35**, 204–213 (2015).
 442. Tabashnik, B. Evolution of Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* **39**,

- 47–79 (1994).
443. Ferré, J. & Van Rie, J. Biochemistry and Genetics of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* **47**, 501–533 (2002).
444. De Almeida Melo, A. L., Soccol, V. T. & Soccol, C. R. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* **36**, 317–26 (2016).
445. Siegwart, M. *et al.* Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Front. Plant Sci.* **6**, 1–19 (2015).
446. Becker, N. & Ludwig, M. Investigations on Possible Resistance in *Aedes Vexans* field populations after a 10-year application of *Bacillus thuringiensis israeliensis*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **9**, 221–224 (1993).
447. Becker, N., Ludwig, M. & Su, T. Lack of Resistance in *Aedes Vexans* Field Populations After 36 Years of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israeliensis* Applications in the Upper Rhine Valley, Germany. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **34**, 154–157 (2018).
448. Boyer, S., Paris, M., Jegou, S., Lempérière, G. & Ravanel, P. Influence of insecticide *Bacillus thuringiensis* subsp. *israeliensis* treatments on resistance and enzyme activities in *Aedes rusticus* larvae (Diptera: Culicidae). *Biol. Control* **62**, 75–81 (2012).
449. Boyer, S., Tilquin, M. & Ravanel, P. Differential sensitivity to *Bacillus thuringiensis* var. *israeliensis* and temephos in field mosquito populations of *Ochlerotatus cataphylla* (Diptera: Culicidae): Toward resistance? *Environ. Toxicol. Chem.* **26**, 157–162 (2007).
450. Paris, M. *et al.* Genome scan in the mosquito *Aedes rusticus*: Population structure and detection of positive selection after insecticide treatment. *Mol. Ecol.* **19**, 325–337 (2010).
451. Paris, M. *et al.* Persistence of *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Bti) in the environment induces resistance to multiple Bti toxins in mosquitoes. *Pest Manag. Sci.* **67**, 122–128 (2011).
452. Paris, M. *et al.* Transcription profiling of resistance to Bti toxins in the mosquito *Aedes aegypti* using next-generation sequencing. *J. Invertebr. Pathol.* **109**, 201–208 (2012).
453. Després, L. *et al.* Chemical and biological insecticides select distinct gene expression patterns in *Aedes aegypti* mosquito. *Biol. Lett.* (2014) doi:10.1098/rsbl.2014.0716.
454. Tetreau, G. *et al.* Larval midgut modifications associated with Bti resistance in the yellow fever mosquito using proteomic and transcriptomic approaches. *BMC Genomics* **13**, (2012).

455. Tetreau, G., Stalinski, R., David, J. P. & Després, L. Increase In Larval Gut Proteolytic Activities And Bti Resistance In The Dengue Fever Mosquito. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **82**, 71–83 (2013).
456. Paris, M. *et al.* Investigating the genetics of Bti resistance using mRNA tag sequencing: Application on laboratory strains and natural populations of the dengue vector *Aedes aegypti*. *Evol. Appl.* **6**, 1012–1027 (2013).
457. Carvalho, K. D. S. *et al.* Long-term exposure of *Aedes aegypti* to *Bacillus thuringiensis* svar. *Israelensis* did not involve altered susceptibility to this microbial larvicide or to other control agents. *Parasites and Vectors* **11**, 1–11 (2018).
458. Saleh, M. S., El-Meniawi, F. A., Kelada, N. L. & Zahran, H. M. Resistance development in mosquito larvae *Culex pipiens* to the bacterial agent *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *J. Appl. Entomol.* **127**, 29–32 (2003).
459. Paris, M., David, J. P. & Despres, L. Fitness costs of resistance to Bti toxins in the dengue vector *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology* **20**, 1184–1194 (2011).
460. Silva-Filha, M. H. N. L. Resistance of Mosquitoes to Entomopathogenic Bacterial-Based Larvicides: Current Status and Strategies for Management (Chapter 15). in *Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus. Characterization and use in the field of biocontrol* (eds. Fiuza, L. M., Polanczyk, R. A. & Crickmore, N.) 239–257 (Springer, 2017). doi:10.1007/978-3-319-56678-8.
461. de Bortoli, C. P. & Jurat-Fuentes, J. L. Mechanisms of resistance to commercially relevant entomopathogenic bacteria. *Curr. Opin. Insect Sci.* **33**, 56–62 (2019).
462. Santos, E. M. de M. *et al.* Frequency of resistance alleles to *Lysinibacillus sphaericus* in a *Culex quinquefasciatus* population treated with a *L. sphaericus*/Bti biolarvicide. *Biol. Control* **132**, 95–101 (2019).
463. Carrasco, D. *et al.* Behavioural adaptations of mosquito vectors to insecticide control. *Curr. Opin. Insect Sci.* **34**, 48–54 (2019).
464. Benelli, G., Jeffries, C. L. & Walker, T. Biological control of mosquito vectors: Past, present, and future. *Insects* **7**, 1–18 (2016).
465. European Union & EU. Directive 91/414/CEE du Conseil, du 15 juillet 1991, concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=CELEX%3A31991L0414> (1991).
466. Martinou, A. F. *et al.* A call to arms: Setting the framework for a code of practice for

- mosquito management in European wetlands. *J. Appl. Ecol.* 1–8 (2020)
doi:10.1111/1365-2664.13631.
467. McDermott, E. G. & Mullens, B. A. The dark side of light traps. *J. Med. Entomol.* **55**, 251–261 (2018).
468. In2Care. The In2Care Mosquito Trap. *In2Care* <http://www.in2care.org/> (2017).
469. Snetselaar, J. *et al.* Development and evaluation of a novel contamination device that targets multiple life-stages of *Aedes aegypti*. *Parasit. Vectors* **7**, 200 (2014).
470. Andriessen, R. *et al.* Electrostatic coating enhances bioavailability of insecticides and breaks pyrethroid resistance in mosquitoes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 12081–12086 (2015).
471. Buckner, E. A., Williams, K. F., Marsicano, A. L., Mark, D. & Lesser, C. R. Evaluating the Vector Control Potential of the In2Care[®] Mosquito Trap Against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Under Semifield Conditions in Manatee County, Florida. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **33**, 193–199 (2017).
472. Biogents. Biogents Mosquito Traps. *Biogents* <https://eu.biogents.com/mosquito-traps/>.
473. Akhoundi, M., Jourdain, F., Chandre, F., Delaunay, P. & Roiz, D. Effectiveness of a field trap barrier system for controlling *Aedes albopictus*: a “removal trapping” strategy. *Parasit. Vectors* **11**, 101 (2018).
474. Englbrecht, C., Gordon, S., Venturelli, C., Rose, A. & Geier, M. Evaluation of BG-sentinel trap as a management tool to reduce *aedes albopictus* nuisance in an urban environment in Italy. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **31**, 16–25 (2015).
475. Geier, M., Englbrecht, C., Carey, B., Horton, S. & Rose, A. Innovative mosquito control: Reducing human landing rates through new innovative mosquito traps.pdf. in *Proceedings of the 23rd Scientific and Educational Seminar DDD and ZUPP 2011. Korunic, Zagreb, Croatia* 121–132 (2011).
476. Degener, C. M. *et al.* Field trials to evaluate the effectiveness of the biogentst-sweetscent lure in combination with several commercial mosquito traps and to assess the effectiveness of the biogents-mosquitaire trap with and without carbon dioxide. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **35**, 32–39 (2019).
477. Qista. Solution anti-moustique. *Qista* <https://qista.eu/fr/concept-anti-moustique> (2017).
478. Poulin, B., Lefebvre, G., Muranyi-Kovacs, C. & Hilaire, S. Mosquito Traps: An Innovative, Environmentally Friendly Technique to Control Mosquitoes. *Int. J. Environ. Res. Public*

- Health* **14**, 313 (2017).
479. GDG Environnement. Rapport d' étude entomologique pour la ville de Châteauguay, 2016. 28 (2016).
480. Moreau, S. & GDG Environnement. *Rapport d'exécution . Contrôle biologique des insectes piqueurs. Ville de Pointe-à-la-Croix 2018. Document préparé à l'intention du Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs du Québec - Direction régionale de la Gaspésie-Îles-de-la-Madeleine.* (2018).
481. Radio-Canada (d'après le reportage de Jérôme Lévesque-Boucher). Une municipalité s'attaque aux moustiques. *Radio-Canada* <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/1049788/piege-moustique-saint-andre-kamouraska> (2017).
482. Gendron, S. Un million de moustiques capturés dans des pièges. Ils serviront à nourrir des truites. *Le Journal de Québec* <https://www.journaldequebec.com/2018/09/10/un-million-de-moustiques-captures-dans-des-pieges> (2018).
483. Centers for Disease Control and Prevention, (CDC). Zika Virus - Prevent Mosquito Bites. *CDC* <https://www.cdc.gov/zika/prevention/prevent-mosquito-bites.html> (2018).
484. Santé Canada. Insectifuges. *Canada.ca* <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/sujet-pesticides/insectifuges.html> (2019).
485. Onyett, H. & Société canadienne de pédiatrie. La prévention des piqûres de moustiques et de tiques : une mise à jour canadienne (*Paediatr Child Health* 2014;19(6):329-332. <https://www.cps.ca/fr/documents/position/prevention-piqures-de-moustiques-et-de-tiques> (2017).
486. Syed, Z. & Leal, W. S. Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 13598–13603 (2008).
487. Health Canada Pest Management Regulatory Agency & ARLA. Registration Decision: Icaridin. 7 (2012).
488. Agence de réglementation de la lutte Antiparasitaire (ARLA). Décision d'homologation RD2014-05, p-menthane-3,8-diol et composés d'huile d'eucalyptus citronné apparentés - *Canada.ca.* <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/rapports-publications/pesticides-lutte-antiparasitaire/decisions-mises-jour/decision-homologation/2014/menthane-3-8-diol-rd2014-05.html> (2014).
489. Xu, P., Choo, Y.-M., De La Rosa, A. & Leal, W. S. Mosquito odorant receptor for DEET and methyl jasmonate. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 16592–16597 (2014).

490. Drakou, C. E. *et al.* The crystal structure of the AgamOBP1-Icaridin complex reveals alternative binding modes and stereo-selective repellent recognition. *Cell. Mol. Life Sci.* **74**, 319–338 (2016).
491. Knepper, T. P. Analysis and mass spectrometric characterization of the insect repellent Bayrepel and its main metabolite Bayrepel-acid. *J. Chromatogr. A* **1046**, 159–166 (2004).
492. Almeida, R. M., Han, B. A., Reisinger, A. J., Kagemann, C. & Rosi, E. J. High mortality in aquatic predators of mosquito larvae caused by exposure to insect repellent. *Biol. Lett.* **14**, 20180526 (2018).
493. Bellini, R., Zeller, H. & Van Bortel, W. A review of the vector management methods to prevent and control outbreaks of West Nile virus infection and the challenge for Europe. *Parasit. Vectors* **7**, 323 (2014).
494. Irwin, P. & Paskewitz, S. Investigation of fathead minnows (*Pimephales promelas*) as a biological control agent of *Culex* mosquitoes under laboratory and field conditions. *J Am Mosq Control Assoc* **25**, 301–309 (2009).
495. Rockland County. Fathead Minnow Information - Why Use Fathead Minnows For Mosquito Control? *Rockland County*
<http://rocklandgov.com/departments/health/environmental-health/mosquito-control/fathead-minnow-information/> (2016).
496. Irgang, T. Minnows help eat away mosquito threat. *USA Today*
http://usatoday30.usatoday.com/news/nation/environment/2009-07-06-mosquitofish_N.htm.
497. Dunn's Fish Farm. Fathead Minnows. *Dunn's Fish Farm*
http://www.dunnsfishfarm.com/fathead_minnows_251_prd1.htm (2014).
498. SOLitude Lake Management. Stocking Minnows: A Natural Method For Mosquito Control. *SOLitude Lake Management* <https://www.solitudelakemanagement.com/blog/stocking-minnows-a-natural-method-for-mosquito-control> (2014).
499. Sarwar M. Controlling Dengue Spreading Aedes Mosquitoes (Diptera : Culicidae) Using Ecological Services by Frogs , Toads and Tadpoles (Anura) as Predators. *Am. J. Clin. Neurol. Neurosurg.* **1**, 18–24 (2015).
500. MFFP. Demande de Permis SEG et certificat de bons soins aux animaux. *MFFP*
<https://mffp.gouv.qc.ca/faune/formulaires/permis-SEG.jsp> (2016).
501. Benelli, G. Plant-borne ovicides in the fight against mosquito vectors of medical and

- veterinary importance: a systematic review. *Parasitol. Res.* **114**, 3201–3212 (2015).
502. Weeks, E. N. I. *et al.* Methionine as a safe and effective novel biorational mosquito larvicide. *Pest Manag. Sci.* **75**, 346–355 (2019).
503. Weeks, E. N. I. *et al.* Safety of methionine, a novel biopesticide, to adult and larval honey bees (*Apis mellifera* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **149**, 211–216 (2018).
504. Duvall, L. B., Ramos-Espiritu, L., Barsoum, K. E., Glickman, J. F. & Vosshall, L. B. Small-Molecule Agonists of *Ae. aegypti* Neuropeptide Y Receptor Block Mosquito Biting. *Cell* **176**, 687–701.e5 (2019).
505. Benelli, G., Caselli, A. & Canale, A. Nanoparticles for mosquito control: Challenges and constraints. *J. King Saud Univ. - Sci.* **29**, 424–435 (2017).
506. Benelli, G. *et al.* Mosquito control with green nanopesticides : towards the One Health approach ? A review of non-target effects. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25**, 10184–10206 (2018).
507. Akaratovic, K. I., Kiser, J. P., Gordon, S. & Abadam, C. F. Evaluation of the Trapping Performance of Four Biogents AG Traps and Two Lures for the Surveillance of *Aedes albopictus* and Other Host-Seeking Mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **33**, 108–115 (2017).
508. EID Méditerranée. Un acteur de l'aménagement du territoire. *EID Méditerranée* <http://www.eid-med.org/page/historique> (2013).
509. EID méditerranée & Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen. *Rapport d'activités #2016*. (2017).
510. Allgeier, S., Kümlich, F., Kästel, A. & Brühl, C. . Indirekte Effekte der BTI-Behandlung auf das Nahrungsnetz: Molche und Libellen. Poster Presentation, 18th joint Annual Meeting of the SETAC GLB and the GDCh (Section Environmental chemistry and Ecotoxicology) 2013, Essen, Germany. 2013 (2013).
511. EID Méditerranée. Des associations retoquées en justice | EID Mediterranée. *EID Méditerranée* <http://www.eid-med.org/actualites/des-associations-retoquees-en-justice> (2014).
512. Sariözkan, S. *et al.* [Economic losses during an outbreak of *Simulium* (Wilhelmia) species (Diptera: Simuliidae) in the Cappadocia region of Turkey]. *Turkiye Parazitol. Derg.* **38**, 116–119 (2014).
513. Halasa, Y. A. *et al.* Quantifying the impact of mosquitoes on quality of life and enjoyment

- of yard and porch activities in New Jersey. *PLoS One* **9**, e89221 (2014).
514. Shepard, D. S. *et al.* Economic evaluation of an area-wide integrated pest management program to control the Asian tiger mosquito in New Jersey. *PLoS One* **9**, e111014 (2014).
515. von Hirsch, H. & Becker, N. Cost-benefit analysis of mosquito control operations based on microbial control agents in the upper Rhine valley (Germany). *Eur. Mosq. Bull.* **27**, 47–55 (2009).
516. John, K. H., Walsh, R. G. & Moore, C. G. Comparison of alternative nonmarket valuation methods for an economic assessment of a public program. *Ecol. Econ.* **5**, 179–196 (1992).
517. Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU). Entwicklung eines naturschutzkonformen Konzeptes zur Stechmückenbekämpfung am Oberrhein. *DBU - Projektdatenbank* https://www.dbu.de/projekt_32608/01_db_2848.html (2019).
518. Westerberg, V. H., Lifran, R. & Olsen, S. B. To restore or not? A valuation of social and ecological functions of the Marais des Baux wetland in Southern France. *Ecol. Econ.* **69**, 2383–2393 (2010).
519. Dupras, J., Alam, M. & Revéret, J.-P. Economic value of Greater Montreal's non-market ecosystem services in a land use management and planning perspective. *Can. Geogr. / Le Géographe Can.* **59**, 93–106 (2015).
520. He, J., Dupras, J. & Poder, T. G. The value of wetlands in Quebec: a comparison between contingent valuation and choice experiment. *J. Environ. Econ. Policy* **6**, 51–78 (2016).
521. Rosi-Marshall, E. J. *et al.* Toxins in transgenic crop byproducts may affect headwater stream ecosystems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 16204–16208 (2007).
522. Chambers, C. P. *et al.* Responses of stream macroinvertebrates to Bt maize leaf detritus. *Ecol. Appl.* **20**, 1949–60 (2010).
523. Douville, M., Gagné, F., Masson, L., McKay, J. & Blaise, C. Tracking the source of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab endotoxin in the environment. *Biochem. Syst. Ecol.* **33**, 219–232 (2005).
524. Douville, M., Gagné, F., C., B. & André, C. Occurrence and persistence of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and transgenic Bt corn cry1Ab gene from an aquatic environment. *Ecotoxicol. Env. Saf.* **66**, 195–203 (2007).
525. Bundschuh, R., Bundschuh, M., Otto, M. & Schulz, R. Food-related exposure to systemic pesticides and pesticides from transgenic plants: evaluation of aquatic test strategies. *Environ. Sci. Eur.* **31**, 1–13 (2019).

526. Pott, A., Bundschuh, M., Bundschuh, R., Otto, M. & Schulz, R. Effect of Bt toxin Cry1Ab on two freshwater caddisfly shredders – an attempt to establish dose-effect relationships through food-spiking. *Sci. Rep.* **10**, 1–9 (2020).
527. Ministère des Forêts de la Faune et des Parcs (MFFP). *Lignes directrices pour la conservation des habitats fauniques (4e édition)*. <https://mffp.gouv.qc.ca/faune/habitats-fauniques/pdf/lignes-directrices-habitats.pdf> (2015).
528. Ministère de l'Environnement et Lutte contre les changements climatiques. Les principes du développement durable : un guide pour l'action. <http://www.environnement.gouv.qc.ca/developpement/principe.htm> (2019).

Annexe 1

**Carbrera, P. 2018. Unités de doses et de concentrations d'épandage de *Bti*.
Rapport final préparé pour le ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs,
Québec. 45 pp.**