

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université DJILALI BOUNAAMA
Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de: biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité: Physiologie cellulaire et physiopathologie

*Thème : Toxicité aigue de la deltaméthrine et
évaluation du système de détoxification chez Apis
mellifera intermissa*

Présenté par :

M^{elle}.ABDESSELAM Wahiba

M^{elle}.BENBEDRA Kheira

Soutenu le : 01/07/2018

Président : Mme BENSEHAILA S.

MAB. UDBKM

Promotrice : Mme NABTI D.

MCB. UDBKM

Examinatrice: Mme AIZA A.

MAB. UDBKM

Examinatrice: Mme OUAZIB M.

MAB. UDBKM

Année universitaire: 2017/2018

Remerciements

C'est avec un réel plaisir que je réserve ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir aidé à réaliser ce modeste travail.

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mme NABTI DJ**, Maitre de conférence « B » à l'université de Khemis Miliana, pour m'avoir dirigé et guider tout le long de ce travail. Ses conseils et ses remarques constructifs étaient très bénéfiques pour mon travail, son soutien permanent ainsi que sa disponibilité. Je lui témoigne ma gratitude pour sa patience et son soutien.*

J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury :

*Je remercie énormément **Mme BENSEHAILA**, Maitre assistant « B » qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de jury.*

*Mes remerciements sincères et respectueux vont à **Mme AIZA A**, Maitre assistant « B » pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant l'examen de mon travail.*

*Egalement mes remerciements à **Mr. Ouali** professeur et directeur de laboratoire de biosurveillance de l'environnement, Département de biologie, Faculté des Sciences, Université Badji-Mokhtar, Annaba, pour son aide précieuse sur la réalisation de dosages du GST*

*Je remercie **Mr KOVACH**, pour les échantillons des abeilles*

Je remercie très chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail

Que tous mes amis du Département de Biologie à la Faculté des SNV-STU de l'université Djilali Bounaama Khemis Miliana, trouvent ici l'expression de ma profonde amitié.



Dédicaces

*Au nom d'Allah le clément et le miséricordieux
Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chères parents, ma merveilleuse mère, que j'adore à en
mourir qui ma tout donné jusqu'à là.*

*Mon adorable et gentil père qui ma tout donné sans rien recevoir
en parallèle.*

Avant tous et partout, Qui m'ont tout donné sans contrepartie.

Et qui ont été toujours pour moi dans toute

Les circonstances.

A mes Frères et ma sœur

Billal, Abderrahman, Faiza

A toute ma famille

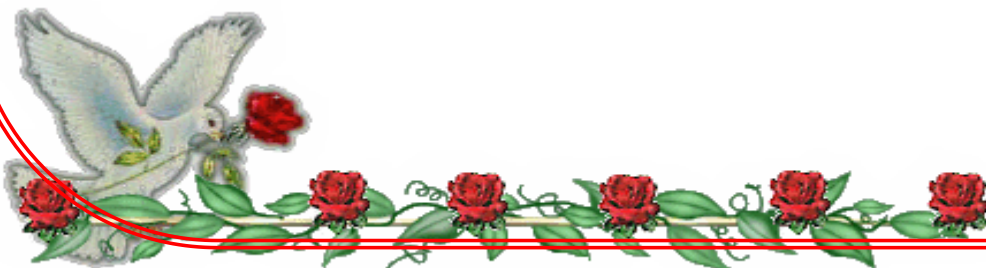
Pour leurs compréhensions et leurs encouragements

A tous mes amies

A mon binôme Wahiba et toute la famille ABDESSELAM

*A tous les étudiants de la promotion de master II physiologie
cellulaire et physiopathologie*

Kheira



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents

*Ma mère et mon père, pour leurs soutient moral et
leurs amour durant toute ma vie.*

A mes sœurs Lamia, Madiha et sa fille Meriem

*A mes frères Omar et Hicham qui trouvent ici
Toute ma gratitude pour leur soutien tout en long de
mes études.*

A mes tantes et mes oncles.

A mes cousins et mes cousines.

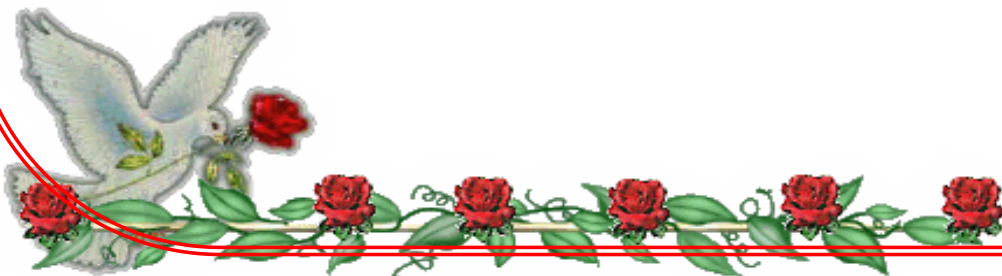
A tout mes amies surtout : Amina et Asmaa

A mon binôme : kheira et tout la famille

BENBEDRA.

*A tout la promotion de master II physiologie
cellulaire et physiopathologie.*

Wahiba



Liste d'abréviation

μL	Microlitre.
BBC	Bleu brillant de Coomassie.
CDNB	Chlorodinitrobenzène.
DDL	Degré de liberté.
DL₅₀	Dose létale 50, équivalent à la dose causant la mort de 50% des échantillons.
FAO	Food and Agriculture Organization en Fr : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture.
GSH	Glutathion réduit.
GST	Glutathione-S Transférase.
HCl	Acide chlorhydrique.
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques.
MC	Moyenne des carrés.
MI	Millimètre.
NaOH	Hydroxyde de sodium.
Ng	Nanogramme.
OECD	Organization for economic Co-Operation and Development.
OMS	Organisation Mondiale de Santé.
ORSB	Observatoire Régional de Santé de Bretagne.
pH	Potentiel Hydrogène.
Ppm	Partie par million.
R	Répétition.

Liste des figures

Fig 01	Les trois castes des abeilles	05
Fig 02	Morphologie de l'abeille	08
Fig 03	Echantillonnage des abeilles	18
Fig 04	Site des ruches des abeilles	18
Fig 05	Structure moléculaire de la Deltaméthrine	19
Fig 06	Présentation de DECIS EC 25	20
Fig 07	Méthode expérimentale de toxicité d'un insecticide de la famille chimique des pyréthriinoïdes à l'égard d' <i>Apis mellifera intermissa</i>	22
Fig 08	Matériel utilisé dans le travail expérimental	23
Fig 09	Application orale de DECIS EC 25	24
Fig 10	Dissection d'une abeille	25
Fig 11	Mesure de PH de tampon phosphate	26
Fig 12	Les étapes de préparation de solution d'analyse	27
Fig 13	Droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des ouvrières (exposition orale de 24h) en fonction des logarithmes décimaux des concentrations	30
Fig 14	Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles de <i>Apis mellifera intermissa</i> ($m \pm \text{CE}$; $n= 3$) après 24 h	33
Fig 15	Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de DECIS EC 25 chez les adultes femelles de <i>Apis mellifera intermissa</i> ($m \pm \text{CE}$; $n= 3$) après 48 h	35
Fig 16	Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles de <i>Apis mellifera intermissa</i> ($m \pm \text{CE}$; $n= 3$) après 72 h	36
Fig 17	Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles d' <i>A mellifera intermissa</i> ($m \pm \text{CE}$; $n= 3$) après 96 h	38
Fig 18	Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles d' <i>A mellifera intermissa</i> ($m \pm \text{CE}$; $n= 3$) après 24h, 48h, 72h et 96 h	41

Liste des tableaux

Tab 01	Principaux types des pesticides	10
Tab 02	Toxicité du DECIS EC25 (ppm) à l'égard des ouvrières d' <i>A. mellifera intermissa</i> après une exposition orale de 24h : analyse des Probits de la CL50.	29
Tab 03	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	30
Tab 04	Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d' <i>A. Mellifera intermissa</i> après 24h. L'analyse de la variance à un critère de classification.	33
Tab 05	Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d' <i>A. mellifera intermissa</i> après 48h: L'analyse de la variance à un critère de classification	34
Tab 06	Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d' <i>A. mellifera intermissa</i> après 72h. L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1)	36
Tab 07	Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d' <i>A. mellifera intermissa</i> après 96h : L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1)	37
Tab 08	Etude comparative des Moyennes estimées chez les abeilles traitées et témoins	39
Tab 09	Etude comparative de l'activité de la GST chez les abeilles <i>Apis mellifera intermissa</i> : Analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2)	40
Tab 01	Etude comparative par l'ANOVA 2 analyse de variance à deux critères de classification (Traitement ; Temps).	Annexe B

Remerciements	
Dédicace	
Liste d'abréviation	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction	01

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre I : l'apiculture et abeille algérienne

I. Apiculture et abeille algérienne	
I.1. Apiculture en Algérie	03
I.2. Abeille algérienne	04

Chapitre II : Pesticides et biosurveillance

II. Pesticides et biosurveillance	
II.1. Pesticides	10
II.2. biosurveillance	13

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel & Méthodes

I. Présentation de matériel biologique	18
II. Echantillonnage et collecte des abeilles	18
III. Présentation du traitement d'étude	19
III.1. DECIS EC 25 (Deltaméthrine)	19
III.2. Structure moléculaire	19
III.3. Utilisation de deltaméthrine	20
III.4. Le mode d'emploi	20
III.5. Mode d'action de deltaméthrine	20
IV. Méthode de travail expérimental	21
V. Présentation de matériel d'analyse	23
V.1. Matériels expérimental	23
V.2. Produits utilisés	23
VI. Protocole expérimental	24
VI.1. Méthode d'application de DECIS EC 25	24
VI.2. Dissection et conservation	25

VI.3. Dosage de biomarqueur Glutathion-S transférase GST	26
VI.4. Dosage des protéines	28
VII. Analyse statistique	28

Chapitre II : Résultats et interprétation

I. Résultats et interprétation	29
I.1. Choix de la dose létale DL ₅₀	29
I.2. Dosage des protéines	30
I.3. Effet de DECIS EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de la glutathion-s transférase GST	31
I.4. Analyse de variance de l'effet de DECIS EC 25 après 24h d'exposition	32
I.5. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 48h	34
I.6. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 72h	35
I.7. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 96h	37
I.8. Comparaison de l'activité spécifique de la GST après 96h d'exposition par le DECIS EC 25 (Deltaméthrine)	38
I.9. Etude comparative de l'activité de la GST par l'ANOVA 2	39
II. Discussion	42

Partie III : Conclusion et perspectives

Conclusion	45
Références bibliographiques	
Annexes	



RESUME



Résumé

L'utilisation massive des insecticides dans les milieux agricoles a causé d'énormes dommages sur les organismes non ciblés notamment chez les butineuses algériennes *Apis mellifera intermissa* qui est un excellent modèle biologique très utilisé par les toxicologues.

Cette recherche porte sur l'évaluation du système de détoxification d'un insecticide de la famille chimique pyréthrinéoïde « DECIS EC 25 » en condition de laboratoire sur l'activité enzymatique du GST chez les abeilles adultes d'*Apis mellifera intermissa*.

Une DL₅₀ de 20.90 ppm du DECIS EC 25 « Deltaméthrine » est additionné dans le sirop d'abeille ensuite est appliqué par la voie orale sur les abeilles pendant 24h, 48h, 72h et 96h.

L'analyse de variance à l'aide de logiciel MINITAB 16,01Fr révèle une différence très hautement significative durant le temps d'exposition (96h) (0,000***) et significative par rapport au facteur de traitement (0.014*) mais aucune signification n'a été enregistrée au niveau de l'interaction (temps/traitement) entre les lots témoins et traités (0.461 NS), qui pourrait expliquer par l'impact nocif et la toxicité de ce produit phytosanitaire qui stimule le système de détoxification, cet effet est confirmé par une augmentation de l'activité de GST.

Mots clés : *Apis mellifera intermissa*, Biomarqueurs de détoxification, DECIS EC 25, Deltaméthrine, GST, Toxicité.



Abstract

The massive use of insecticides in agricultural environments has caused enormous damage to non-target organisms, particularly among Algerian foragers *Apis mellifera intermissa*, which is an excellent biological model widely used by toxicologists. This research focuses on the evaluation of the detoxification system of an insecticide of the pyrethroid chemical family "DECIS EC 25" under laboratory conditions on the enzymatic activity of GST in adult honey bees of *Apis mellifera intermissa*.

An LD₅₀ of 20.90 ppm of DECIS EC 25 "Deltamethrin" is added in the syrup and then applied orally to the bees for 24 hours, 48 hours, 72 hours and 96 hours.

Analysis of variance using MINITAB 16,01Fr software revealed a very highly significant difference during the exposure time (96h) (0,000 ***) and significant with respect to the treatment factor (0.014 *) but none significance was recorded at the level of the interaction (time / treatment) between the control and treated batches (0.461 NS), which could be explained by the harmful impact and the toxicity of this phytosanitary product which stimulates the detoxification system. Effect is confirmed by an increase in GST activity.

Key words: *Apis mellifera intermissa*, Detoxifying biomarkers, DECIS EC 25, Deltamethrin, GST, Toxicity.



الملخص

الاستعمال المفرط للمبيدات الحشرية في البيئات الزراعية سبب أضراراً وخيمة للكائنات الغير مستهدفة من بينها عاملات النحل العسلي، إذ يعتبر نموذج بيولوجي ممتاز يستخدم بشكل راقى جداً من قبل علماء التخصص في علم السموم.

الدراسة التقييمية تكمن في تقييم و تبيين نظام إزالة السموم لمبيد حشري مستعمل من طرف الفلاحين (DECIS EC 25) مادته الفعالة (Deltaméthrine) من عائلة كيميائية (Pyréthriñoïde) باستعمال (GST) أنزيم مؤشر بيوكيميائي.

جرعة قاتلة من المبيد الحشري ل50٪ من النحل (20.92 ppm) تم إضافتها في السائل السكري المغذي و تطبيقها فمويًا على وتم تتبّع النتائج لمدة 24 سا، 48سا، 72 سا و 96سا.

تحليل التباين باستخدام برنامج MINITAB 16.01 Fr تكشف عن فرق كبير للغاية خلال فترة التعرض (96 سا) (***) (0.000)، و اختلاف هام بالنسبة لعامل العلاج (*0.014) في حين لم يتم تسجيل أي دلالة للاختلاف على مستوى التفاعل (الوقت.العلاج) بين مجموعة النحل المعالج و الشواهد (0.461NS)، التي يمكن أن تفسر من خلال التأثير الضار و سمية منتج الصحة النباتية هذا الذي يحفز نظام إزالة السموم، يتم تأكيد هذا التأثير من خلال زيادة في نشاط إنزيم GST.

الكلمات المفتاحية: النحل العسلي، DECIS EC 25، Deltaméthrine، GST، سمية، مؤشر بيوكيميائي.



INTRODUCTION



Introduction

La place qu'occupe l'abeille dans l'environnement revêt plusieurs aspects : agronomique, économique, écologique et scientifique. Elle joue un rôle économique important en tant que support de l'apiculture (production de miel, de gelée royale, de pollen, de propolis et de cire). (**Chahbar. 2011**). Elle contribue de manière importante au maintien d'une biodiversité essentielle pour les écosystèmes (**Straub. 2007**). Elles jouent un rôle primordial dans les diverses phases de la vie de nombreuses espèces végétales et animales. En effet, les abeilles, présentent de multiples intérêts dont la pollinisation de nombreux végétaux (**Gallai et al., 2009; Rader et al., 2009; Moritz et al., 2010**). Les abeilles ont ainsi un rôle écologique de premier plan en réalisant la reproduction des plantes entomophiles et en favorisant le maintien de la diversité génétique (**Anderson et al., 2011; Ashman et al., 2004; Aguilar et al., 2006; Krupke et al., 2012**). L'augmentation de la pression environnementale et anthropique à laquelle sont exposées les populations d'abeilles domestiques est soupçonnée d'être à la base de leur déclin à l'échelle mondiale (**Beismejjer et al., 2006; Oldroyd. 2007; Paxton et al., 2007; Stokstad. 2007; Grixti et al., 2009; Ratnieks & Carreck. 2010; Whitehorn et al., 2012**). Dans son environnement, l'abeille est soumise à divers facteurs tels que les produits phytosanitaires qui se manifestent par une mortalité de centaines, voire de milliers d'abeilles dans les cas extrêmes gisant sur le sol de la ruche ou devant le trou d'envol. (**Porrini et al., 2003**).

L'abeille représente un véritable témoin de la qualité de l'environnement par le biais de ses caractéristiques biologiques et son activité intense de butinage qui la mettent en contact avec les produits phytopharmaceutiques et autres polluants environnementaux (**Perugini et al., 2011**). Elle mérite le nom d'une espèce sentinelle (**Lagadic et al., 1998; Elliott et al., 2011**) et constitue un modèle biologique d'intérêt majeur.

En effet, pour détecter la présence de pesticides et leur impact sur l'environnement, une des méthodes utilisées est l'approche biologique basée sur l'étude d'espèces bioindicatrices et de leurs marqueurs biologiques. Les abeilles constituent un modèle pertinent pour le développement des biomarqueurs afin d'évaluer la contamination de l'environnement (**Wallwork-baker et al., 1982; Leita et al., 2004**).



Le système de détoxification impliqué dans la dégradation des pesticides est un élément majeur dans le devenir des toxiques dans l'organisme. Il constitue un élément essentiel pour la survie de l'individu.

Différents biomarqueurs, notamment ceux du système de détoxification, ont été étudiés (Hyne *et al.*, 2003; Badiou-Bénéteau *et al.*, 2012). Ces biomarqueurs sont fortement stimulés après une exposition aux molécules toxiques. Le suivi de leur activité dans le temps constitue le système de veille environnementale et la modification de leur activité crée l'alerte. Parmi ces biomarqueurs enzymatiques, les Glutathion S-Transférases (GSTs) jouent un rôle important dans le mécanisme de détoxification (Motoyama *et al.*, 1980; Clark *et al.*, 1985; Fournier *et al.*, 1992; Kostaropoulos *et al.*, 2001; Papadopoulos *et al.*, 2004).

Les GSTs représentent une famille de protéines multifonctionnelles, mutagènes, appartenant au système de détoxification de phase II, enzymes cytosoliques qui catalysent la conjugaison du glutathion réduit (GSH) en une variété de composés électrophiles endogènes ou exogènes (Maxwell, 1992; Stone *et al.*, 2002; Barata *et al.*, 2005).

L'objectif principal de cette étude est l'évaluation de système de détoxification chez *Apis mellifera intermissa*.

Nous avons pour cela fait le dosage d'un biomarqueur qui est la GST glutathion s transférase après 24h, 48h, 72h et 96h de traitement par la Décis EC 25 qui est produit phytosanitaire utilisé en agriculture, Ce mémoire comporte quatre sections :

- ✓ Une première partie concerne les données bibliographiques
 - ❖ Le premier chapitre, sur l'apiculture et abeille algérienne
 - ❖ Le deuxième chapitre, porte généralité sur les pesticides et les biomarqueurs.
- ✓ Une seconde partie décrivant les matériels et méthodes utilisés lors du travail expérimental.
- ✓ Une troisième partie exposant les résultats et les discussions.
- ✓ Une quatrième et dernière partie conclusion et perspectives.



CHAPITRE I :
APICULTURE ET
ABEILLE



I. Apiculture et abeille

I.1 Apiculture en Algérie

En Algérie, l'apiculture est un élevage ancestral. Elle a toujours revêtu une importance sur le plan socio-économique, compte tenu des conditions climatiques et de la flore importante favorable à son développement. Malgré ces conditions favorables, la production algérienne en miel, de l'ordre de 4.000 à 5.000 quintaux par an, est inférieure aux besoins de la consommation locale, alors qu'elle devrait être supérieure et être à l'origine d'un courant d'exportation important (**Berkani. 2007**).

L'apiculture algérienne est pratiquée dans de nombreuses régions où la flore mellifère est abondante et variée (**Zinedine et al., 1997**)

I.1.1 Type d'élevage

L'élevage des abeilles constitue une activité ancestrale pratiquée traditionnellement depuis très longtemps par les populations rurales, en assurant ainsi leurs besoins d'autoconsommation en miel comme elle permet aussi de développer la production de l'arboriculture fruitière par la pollinisation des fleurs (**FAO. 2015**). Le nombre des nouveaux ruchers dans l'Algérie est estimé à 464282 ruches, alors que le nombre des ruches traditionnelles est de l'ordre de 100704 ruches (**FAO. 2015**).

I.1.2 Les types des ruches

I.1.2.1 Ruche vulgaire

La ruche est l'habitat de la colonie. Dans la nature, les abeilles construisent leur nid dans des cavités formées par des troncs d'arbres creux, dans des fissures (**Segeren et al., 2004**). Les premières ruches dites ruches « vulgaires » furent aménagées dans des vases en terre cuite, des paniers en osier, en tronc tressé, en paille, en bambou, dans des morceaux d'écorce de chêne liège plus ou moins circulaires, des caisses en bois ayant plus ou, moins la forme d'un parallépipède. (**Ruttner. 1987**).

I.1.2.2 Ruche moderne

Les ruches modernes les plus utilisées sont des ruches à cadres mobiles. Elles permettent à l'apiculteur d'inspecter et de manipuler ses colonies. L'avantage majeur réside dans la possibilité de récolter le miel sans détruire les rayons et de pouvoir les réutiliser (**Paterson. 2008**).

Vue de l'extérieur, la ruche présente 4 parties :



- ❖ **Le toit** : il peut être plat ou à 2 pentes selon que la ruche est installée à l'abri de la pluie ou non.
- ❖ **Le corps** : c'est l'endroit où vivent les abeilles, là où sont disposés les cadres.
- ❖ **L'entrée ou trou de vol** : c'est la porte d'entrée et de sortie. Elle est toujours située en bas de la ruche. Parfois une porte d'entrée est disposée devant. Celle-ci a pour fonction de faciliter le travail des gardiennes. Ainsi disposée devant l'entrée, les gardiennes ont une surface moins importante à défendre.
- ❖ **La planche de vol** : c'est la piste d'atterrissage et de décollage. **(Bradbear. 2010).**

Dans le corps de la ruche, on trouve 3 types de cadres :

Les cadres garnis de miel ou de pollen, un cadre réservé au couvain, et enfin le cadre où réside la reine. **(Bradbear. 2010).**

I.2 Abeille algérienne

L'abeille est un insecte appartenant à l'ordre des hyménoptères et vivant en société, celle-ci étant caractérisée par la division et la spécialisation du travail. Dans les colonies d'abeilles, une seule, la reine, est capable de pondre des œufs ; les mâles, appelés aussi faux bourdons, ont pour principal rôle social celui de féconder la reine, les ouvrières accomplissent des tâches plus diverses, entre autres la récolte de l'aliment, l'organisation du nid, l'entretien des larves, la défense de la ruche contre les attaques d'ennemis éventuels. Leur rôle est donc de veiller à la sécurité et à la prospérité de la famille **(Biri. 2010)**. L'abeille algérienne appartenant à la lignée africaine est représentée par *Apis mellifera intermissa* **(Buttel-Reepen. 1906)**.

I.2.1 Systématique

La race *intermissa* est la plus répandue et son aire de répartition s'étend sur toute l'Afrique du Nord, du Maroc à la Tunisie **(Cornuet et al., 1988; Grissa et al., 1990; Hepburn et al., 1996, Barour et al., 2011; Loucif-Ayad et al., 2014)**.

Sa position systématique est la suivante:



Embranchement:	Arthropodes
Sous embranchement :	Mandibulates
Classe :	Insectes
Sous-classe :	Ptérygotes
Ordre :	Hyménoptères
Sous-ordre :	Apocrites
Section :	Aculéates
Famille :	Apidés
Genre :	Apis
Espèce :	Apis mellifera
Sous-espèce :	<i>Apis mellifera intermissa</i> (Buttel-Reepen. 1906).

I.2.2 Membre de colonie d'abeille

Les colonies d'abeilles se développent progressivement, une grosse colonie pouvant comporter entre 50000 et 60000 individus, parfois plus. Lorsqu'une colonie atteint une certaine taille ou lorsqu'elle est surpeuplée elle se reproduit par essaimage. (Paterson., 2006).

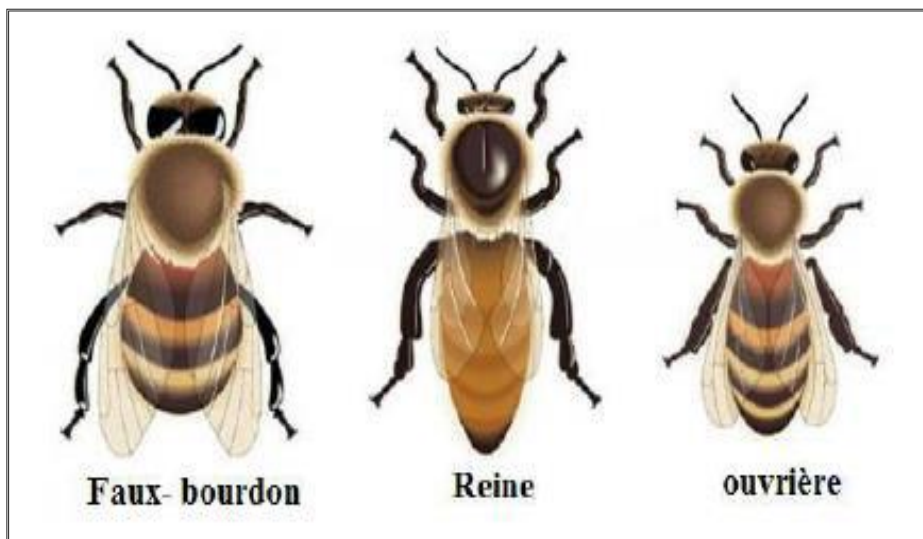


Figure 01 : Les trois castes des abeilles (Rasolofoarivao . 2014).



I.2.2.1 Reine

La reine est la seule femelle parvenue à son complet développement, et donc la seule à pondre des œufs. (**Paterson. 2006**).

A l'intérieur de son abdomen se trouvent deux ovaires de taille importante ainsi qu'une spermatèque (réserve de spermatozoïdes) faisant de la reine une puissante «machine à pondre», elle peut pondre environ 1500 à 2000 œufs par jour, permettant un renouvellement optimal des ouvrières. Son deuxième rôle, permet la cohésion de la colonie par le biais de puissantes phéromones régulant la physiologie et le comportement des ouvrières (**Winston. 1987**). Chaque ruche ne comporte normalement qu'une seule reine, mais il arrive parfois, lorsque la reine vieillit, que les abeilles en élèvent une seconde, qui vit alors pacifiquement à ses côtés jusqu'à ce qu'elle meure (**Paterson. 2006**). La reine commence à pondre 2 à 3 jours après le vol nuptial (**Medjouel. 2008**).

Sa durée de développement est de 16 jours (**Laidlaw et Page. 1997**) et peut vivre jusqu'à plusieurs années (**Fluri. 1994**).

I.2.2.2 Faux-bourdons

Sont les males de la colonie qui se développent à partir d'œufs non fécondés et sont un peu plus grands que les abeilles ouvrières, ils peuvent se compter par plusieurs centaines dans une seule ruche. Contrairement aux ouvrières, les faux bourdons peuvent aller et venir d'une ruche à une autre. Leur seule fonction est de s'accoupler avec une reine vierge (**Paterson. 2006**).

Leur rôle le plus fondamental est de féconder la reine. Ils participeraient également à la thermorégulation de la ruche : de par leur présence ils produisent de la chaleur et aident à réchauffer le couvain (**Prost. 2005**).

I.2.2.3 Ouvrières

Les ouvrières sont les abeilles femelles mais elles ne sont pas reproductrices (**Mezhoudi H. 2010**), dont l'appareil génital est atrophié (**Clément. 2010; Biri. 2002**). C'est la plus petite abeille de la ruche, une ouvrière mesure en moyenne 10 à 12 mm de long pour 4 mm de diamètre de thorax (**Biri. 2010; Ravazzi. 2007**). Elle pèse entre 81 et 151 mg (**Wendling. 2012**), son corps est moins long que celui de la reine, son abdomen est moins proéminent et elle affiche souvent une couleur plus foncée et plus marquée. Les ouvrières ont moins de poils que la reine avec une anatomie adaptée au transport du pollen



et de miel (**Peacock. 2008**). Elles sont les plus nombreux individus de la ruche (**Prost.2005**). Leur durée de développement est de 21 jours (**Laidlaw & Page, 1997**)

Sa durée de vie est très variable selon la période de l'année. et forte différente selon que c'est l'hiver ou l'été (**Frères et al., 2011**).environ de 15 à 70 jours pour les abeilles d'été et de 170 à 243 jours pour celles d'hiver (**Fluri. 1994**).

La distribution des différentes tâches à l'intérieur de la ruche se fait en fonction de la démographie (polyéthisme d'âge). Les jeunes ouvrières occupent des simples travaux à l'intérieur de la ruche (**Seeley. 1983**), elles s'occupent entre autres, de la construction des bâtisses, du nettoyage des alvéoles après la naissance des abeilles, de la nourriture des larves, de l'accumulation des réserves de miel et de pollen, de la transformation dans leur jabot du nectar et du miel, etc. (**Philippe. 2007**).et les plus âgées sont des butineuses (**Seeley. 1983**). à noter que les ouvrières sont diploïdes qui résultent d'œufs fertilisés. (**Wendling. 2012**). Et naît environ 21 jours, après incubation dans les alvéoles (**Pham-Délègue. 1999; Caron. 1999**).

I.2.3 Morphologie d'abeille

L'abeille domestique se présente sous l'aspect typique d'un insecte et comporte une tête, un thorax et un abdomen. Elle a six pattes, quatre ailes, deux gros yeux composés et trois yeux simples, également appelés ocelles ou stemmates. Son développement, comme chez la plupart des insectes, passe par les stades successifs d'œuf, de larve et de nymphe avant de parvenir au stade adulte (**Paterson. 2006**).

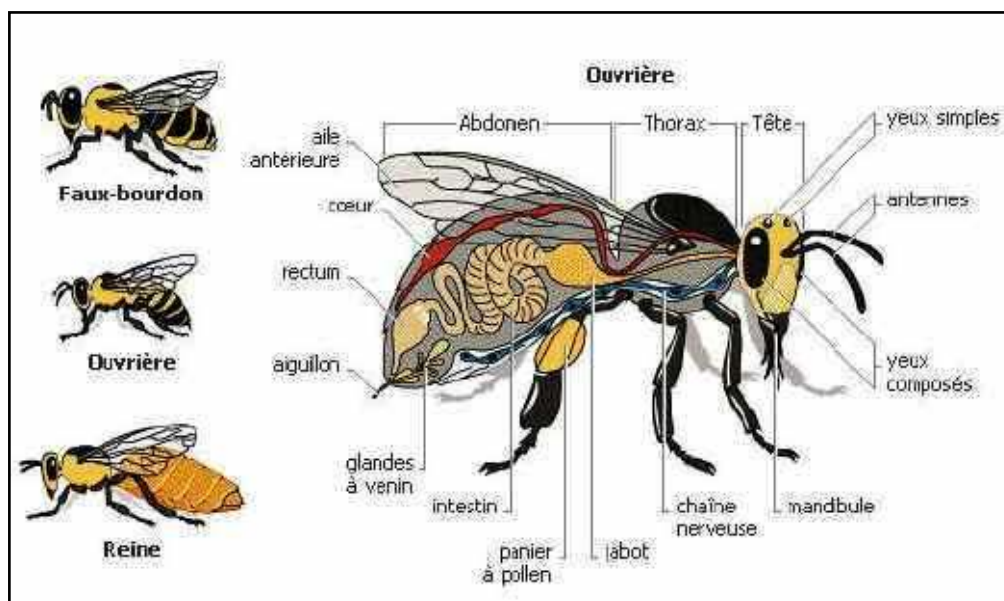


Figure 02: La morphologie de l'abeille. (Hennebelle. 2010).

I.2.3.1 La Tête

C'est une capsule ovoïde (Le conte. 2011) qui présente deux yeux de très grande taille, placés de chaque côté de la tête et trois ocelles. Ce sont trois petits yeux situés au centre de la tête Aussi les antennes qui permettent la communication et les pièces buccales (Gustin. 2008 ; Clément.2010).

I.2.3.2 Le Thorax

C'est la partie la plus dure du corps (Riondet. 2013).Il assure la locomotion de l'abeille car il porte trois paires de pattes et deux grandes ailes et deux petites (Clément. 2010). Les ailes antérieures et postérieures s'accrochent grâce à des crochets (Pohl. 2008). Le thorax contient des muscles puissants et trois paires d'orifices respiratoires appelés stigmates (Le conte. 2011).

I.2.3.3 L'abdomen

C'est la partie la plus grosse de l'abeille qui est composé de 7 anneaux mobiles qui peuvent s'allonger suivant le besoin (Frères et Guillaume., 2011). Il renferme les systèmes respiratoire, circulatoire, digestif, et un certain nombre de glandes. Il se termine par l'appareil vulnérant, l'appareil reproducteur et le rectum (Winston. 1993).

I.2.4 Comportement alimentaire :

A l'exception de l'eau , les abeilles dépendant exclusivement de monde végétal pour leur alimentation, leur nourriture est constituée de nectar et de pollen , auxquels s'ajoute



régulièrement le miellat , le nectar est le liquide riche en sucres produit par les nectaires , organes glandulaires souvent situés a la base des pétales des fleures , il est sécrété a partir de la sève organique de la plante , c'est la ressource énergétique principale, avec le miellat.

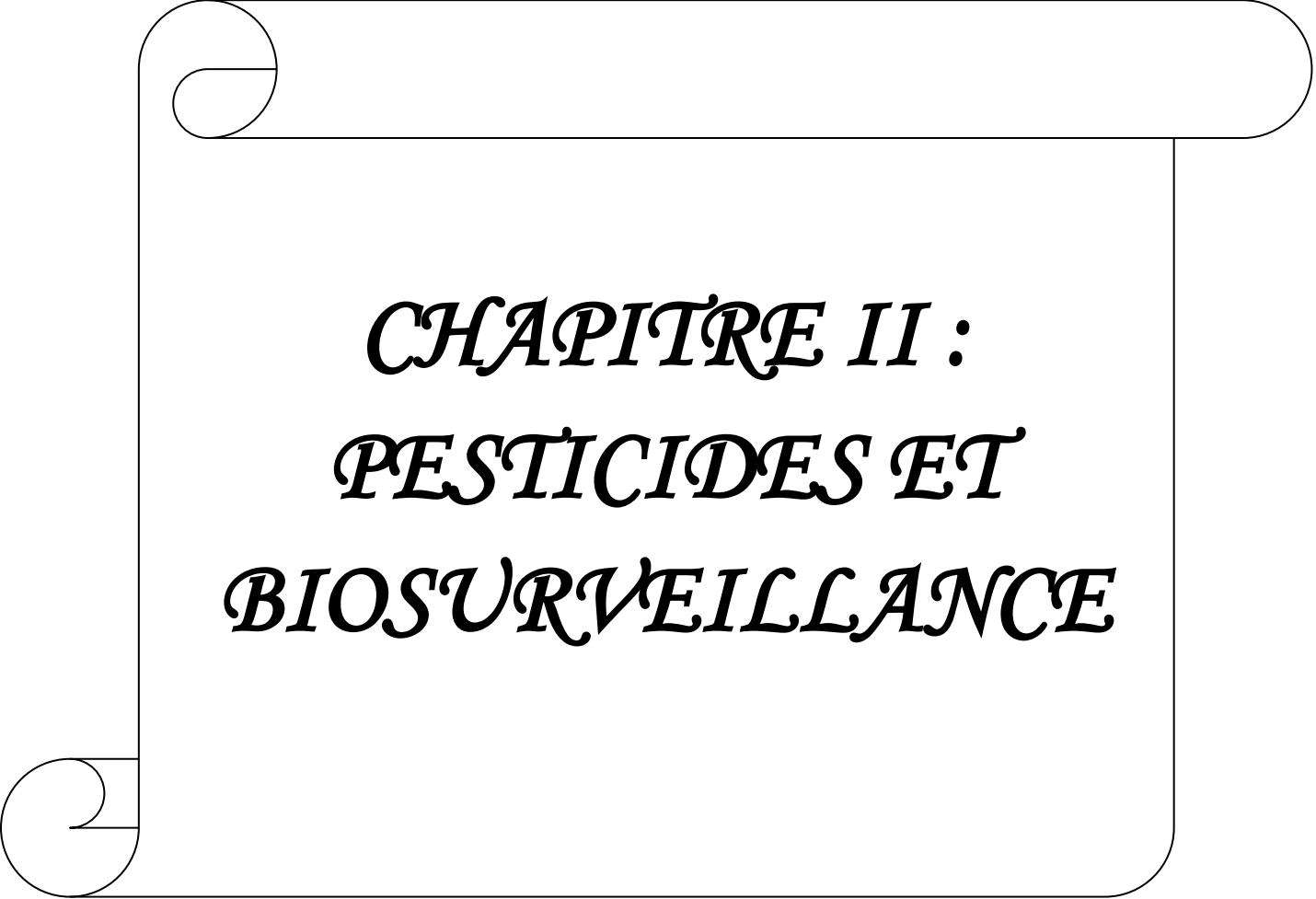
(Berkani. 2007).

Les abeilles, friandes de substances sucrées, récoltent le nectar qui nait au cœur des fleurs, ainsi que le miellat, nectar et miellat, qui sont fait de sucres et de 30% à 50% d'eau, sont stockés dans le jabot de l'abeille où, mélangés à des enzymes, ils vont commencer à se transformer en miel **(Pascal. 2009).**

En règle générale, les abeilles n'ont pas besoins d'être nourries car elles gèrent naturellement leurs réserves de miel. Cependant, lors de conditions climatiques difficiles ou dans un environnement déficient, entre deux miellées par exemple, les colonies peuvent affronter des disettes catastrophiques. Il faut alors leur proposer des nourrissements sucrés en quantité suffisante. Sous forme solide ou liquide, ils remplaceront le miel **(ITELV. 2004).**

I.2.5 Le rôle des abeilles dans la pollinisation

Les abeilles domestiques ainsi que de nombreuses espèces sauvages constituent le groupe de pollinisateurs prédominant et le plus important en termes économiques dans de nombreuses régions du monde. Elles assurent la pollinisation de nombreuses plantes à fleurs. On estime ainsi que 87,5% des espèces de plantes à fleurs dépendent de la pollinisation animale (zoogamie). **(Ollerton et al., 2011).**



***CHAPITRE II :
PESTICIDES ET
BIOSURVEILLANCE***



II. pesticides et biosurveillance

II.1 Pesticides

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe «-cide » qui signifie « tuer » et de la racine anglaise pest (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du latin Pestis (peste) qui désignait le fléau en général. Donc les pesticides sont des composés chimiques dotés de propriétés toxicologiques, utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les animaux ou les plantes jugés nuisibles aux plantations. **(El habib. 2013).**

Les pesticides tuent souvent directement les abeilles (intoxication aiguë), mais ils peuvent aussi agir à des doses sublétales (intoxication chronique) **(Pettigrew. 2008).**

II.1.1 Classification

Les pesticides tuent par contact direct, par empoisonnement de l'estomac ou par fumigation. Il existe huit types de pesticides. Les pesticides les plus dangereux pour les abeilles sont les insecticides, mais certains pesticides sont également toxiques. La plupart des insecticides sont dangereux tant pour les hommes que les abeilles. **(Bradbear. 2010).**

Tableau 01 : Principaux types des pesticides **(Bradbear. 2010)**

Principaux types de pesticides	Cibles (espèces tués)
Rodenticides	Rats et souris
Fongicides	Champignons
Acaricides	Acariens
Herbicides	Plantes
Insecticides Il existe quatre groupes principaux d'insecticides: Hydrocarbure chloré (insecticide organochloré) Phosphates organiques (composé organophosphoré) Carbamates Pyrethroides	Insectes
Nématicides	Nématodes
Molluscicides	Mollusques, limaces, escargots
Bactéricides	Bactéries des êtres humains et d'autres animaux



En général les substances actives sont classées en fonction de :

- la nature de l'espèce à combattre (premier système de classification).
- la nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification). (Calvet R. 2005).

II.1.2 Utilisation des pesticides

Dans l'agriculture : les pesticides sont utilisés pour lutter contre les insectes, les parasites, les champignons et les herbes estimés nuisibles à la production et à la conservation de cultures et produits agricoles ainsi que pour le traitement des locaux. (Ayad-Mokhtari. 2012).

Dans le domaine de la protection des végétaux l'utilisation des pesticides s'avère indispensable pour soigner ou prévenir les maladies des organismes végétaux. (Detroux. 1996).

II.1.3 Impact des pesticides sur les abeilles

Depuis ces dernières années, les populations d'abeilles connaissent un déclin manifeste et alarmant. Le syndrome de l'effondrement des colonies a été identifié comme un problème majeur au début des années 1990. Depuis, on parle d'une véritable « crise de la pollinisation » due à l'extinction localisée de pollinisateurs, voir à un déclin du nombre et de la viabilité des espèces pollinisatrices à l'échelle mondiale. (Abrol. 2012).

L'un des principales raison et l'utilisation des pesticide toxique pour les abeilles, tel que des insecticide et herbicide en bordure des champs, pratiques qui détruisent les fleurs sauvages desquelles se nourrissent les abeilles. Le dernier facteur peut affamer les abeilles (Tirado et al., 2013).

II.1.4 Les insecticides

La plupart des insecticides couramment utilisées aujourd'hui sont des neurotoxiques agissant sur le système nerveux des organismes cibles. Parmi les quelques insecticides ne ciblant pas le système nerveux figurent des régulateurs de croissance, tels que les inhibiteurs de synthèse de chitine, ou des molécules agissant sur le système respiratoire. Les insecticides neurotoxiques sont classés en différentes familles chimiques et agissent sur divers récepteurs Spécifiques. (Julie. 2013).



II.1.4.1 Les voies de pénétration

L'intoxication des abeilles par les produits phytosanitaires peut se produire par trois voies d'intoxication différentes :

- Par contact avec l'insecticide : les abeilles peuvent être aspergées directement par le produit ou butiner des fleurs traitées qui contiennent des résidus. **(Metas. 2006)**.
- Par ingestion de produits contaminés (nectar, pollen, eau, miellat). La colonie entière peut alors être concernée, puisque les butineuses ramènent à la ruche des produits contaminés, qui vont servir à l'alimentation des larves et de congénères adultes. **(Bourg. 2006 ; Metas. 2006)**.
- L'exposition par l'inhalation dépend de la concentration dans l'air, du débit respiratoire et du temps et fréquence de l'exposition. Actuellement, il n'y a aucune étude qui estime l'apport de la voie inhalée à l'exposition totale aux pyréthriinoïdes. **(Leng et al., 1997)**.

II.1.4.2 Impact des insecticides

Les abeilles vivant et butinant à proximité de cultures agricoles peuvent être exposées aux insecticides, notamment durant le printemps et l'été. La période de plantation soumet les abeilles à un fort risque d'exposition car une fraction du traitement insecticide épandu est directement dispersée dans l'environnement proche sous forme de poussières et de particules volatiles contenant de fortes concentrations de la molécule chimique **(Krupke et al., 2012)**. Des études ont été réalisées sur les effets nocifs des insecticides sur la flore **(Maja et al., 2009)** mais aussi sur la faune tel que les abeilles **(Decourtye et al., 2011)** ou il ont montrés la présence des résidus des insecticides non seulement sur l'espèce mais aussi sur les produits de la ruches(miel, cire). **(Maja et al., 2009)**.

II.1.4.2.1 Impact des insecticides sur la flore

L'insecticide est distribué via la sève, dans toute la plante, assurant ainsi une protection de tous les tissus contre les insectes ravageurs dits piqueurs- suceurs. Cette technique a pour buts de concentrer le produit utilisé vers les parties de la plante où les insectes nuisibles sont les plus abondants, et de réduire les risques d'exposition des organismes non ciblés en comparaison avec les applications par pulvérisation **(Charvet et al., 2004; Thompson. 2010)**.



II.1.4.2.2 Impact des insecticides sur la faune (les abeilles)

Les pesticides peuvent perturber certaines fonctions physiologiques chez l'abeille, notamment la thermorégulation et l'activité musculaire (**Belzunces *et al.*, 2012**). La thermorégulation (contrôle de la température corporelle) implique la thermogénèse, par contraction tétanique de muscles alaires, et la thermolyse, par battements des ailes et évaporation de la chaleur, deux processus exercés à l'échelle individuelle et à l'échelle de la colonie (**Belzunces *et al.*, 2012**).

II.1.4.2.3 Exposition soudaine à courte terme (toxicité aiguë)

Les produits phytosanitaires peuvent engendrer une toxicité sur les insectes pollinisateurs à court terme mais également une toxicité différée, avec des réactions sublétales. Le symptôme typique d'une intoxication aiguë est un dépeuplement rapide de la colonie avec la mort des individus (**Metas. 2006**).

La toxicité aiguë est induite par une exposition ponctuelle à une dose importante de Pesticide susceptible d'entraîner des effets immédiats ou rapprochés tels que la manipulation des produits non dilués. La toxicité aiguë des substances chimiques est évaluée à l'aide de tests réglementaires réalisés sur des animaux de laboratoire. La notion retenue est celle de la dose létale 50 (DL50) correspondant à la quantité de matière active qui, administrée en une seule fois, par ingestion, inhalation ou voie cutanée, entraîne la mort de 50% des animaux traités. (**ORSB. 2001**).

II.1.4.2.4 Exposition à long terme (La toxicité chronique)

Lorsque les abeilles sont exposées à des doses moindres que la dose létale, des perturbations peuvent se mettre en place à plus ou moins long terme, concernant la physiologie de l'abeille (longévité, développement, immunité) ou son comportement (mobilité, apprentissage, alimentation, orientation). (**Mackowiak. 2009**).

II.2 Biosurveillance

Actuellement la collaboration entre les scientifiques et les gestionnaires de l'environnement ont permis le développement d'outils d'évaluation éco toxicologique plus spécifiques basés sur deux approches complémentaires, les bio indicateurs et les biomarqueurs (**Viarengo *et al.*, 2007**)



II.2.1 Définition d'un bioindicateur

Bioindicateurs ont été utilisés pour caractériser la biodisponibilité environnementale des polluants métalliques (bioindicateurs d'exposition) et la biodisponibilité toxicologique (biomarqueur d'effet) de l'ensemble des contaminants des sites étudiés dans le programme Bioindicateur 2 (Péres *et al.*, 2011).

Selon la définition de Banaru et Perez (2010), reprise par plusieurs autres auteurs, un bioindicateur est un «organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un éco-complexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées» (Banaru et Perez, 2010).

Le recours aux bioindicateurs constitue donc « une mesure indirecte, substitutive, d'un Phénomène écologique» (Landres *et al.*, 1988).

II.2.1.1 Intérêt des bioindicateurs

Les bioindicateurs peuvent être définis et classés selon leur mécanisme d'action. D'abord, certains permettent de quantifier l'exposition aux polluants grâce à leur capacité de bioaccumulation, ce sont les Bioaccumulateurs (Kaiser, 2001). Ce phénomène de résistance aux changements environnementaux (Marques, 2009) permet de surveiller l'évolution d'une contamination (Kerckhove, 2012).

Le recours à la bio-indication présente plusieurs avantages par rapport aux moyens de mesure instrumentaux traditionnels. D'abord, l'utilisation des bioindicateurs est financièrement plus économique puisqu'elle permet généralement d'éviter d'employer du matériel technologique coûteux (Markert *et al.*, 2003) et d'économiser du temps (Carignan & Villard., 2002).

Le choix de l'espèce sentinelle sur laquelle les marqueurs biologiques seront mesurés est essentiel. Elle constitue un compromis entre les exigences scientifiques et les critères de faisabilité de terrain. Une espèce bioindicatrice doit avant tout être disponible, sensible, facile à prélever et bien refléter la qualité de son environnement (Bocquené et Galgani., 2004). L'abeille représente un véritable témoin de la qualité de l'environnement, elle mérite le titre de « sentinelle de l'environnement » (Perugini *et al.*, 2011 ; Lagadic *et al.*, 1998; Elliott *et al.*, 2011).



II.2.2 Biomarqueurs

Le terme biomarqueurs désigne « les changements observables ou mesurables de certains paramètres moléculaires, biochimiques, cellulaires ou physiologique qui révèlent une exposition présente ou passée de l'organisme à au moins une substance à caractère polluant ». (**Lagadic et al., 1997**). Compte tenu du nombre élevé de variable biochimiques, moléculaires, cellulaires et physiologique qui peuvent être utilisées en tant que biomarqueurs de pollution (**Van Der Oost et al., 2003**).

Ils mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental. Ils peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (**Who. 1993**)

Les biomarqueurs présentent des avantages certains pour la biosurveillance de la pollution, il existe néanmoins un certains nombre de critères auxquels ils doivent répondre pour pouvoir être applicable sur le terrain (**Aït-Aïssa et al., 2003 ; Braia. 2009**).

II.2.2.1 Classification

Il existe des biomarqueurs « spécifiques », adaptés à la détection d'un polluant donné et des biomarqueurs « non spécifiques » qui intègrent les effets de différents facteurs de stress. (**Lagadic et al., 1997**).

II.2.2.2 Les biomarqueurs d'exposition

Ils reflètent l'exposition d'un organisme, d'une population, d'une communauté à un contaminant ou un groupe de contaminant (**Delpage. 1994**).

II.2.1.1.1. Acétylcholinestérase (AChE) biomarqueur de neurotoxicité

Est une enzyme impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme (**Boquené. 1997**). L'utilisation de l'inhibition de l'activité AChE a été largement utilisée dans les études de biosurveillance comme étant un indicateur de neurotoxicité, caractéristique de l'exposition à des substances à caractère neurotoxique telles que les pesticides de tout genre (**Labrot et al., 1996 ; Cajaraville et al., 2000 ; Fluton & Key., 2001 ; Dellali et al., 2001 ; De la Torre et al., 2002**).

II.2.1.1.2. Glutathion S transférase (GST)

la GST représente une famille des enzymes substrats spécifiques qui catalysent la conjugaison du GSH avec les xénobiotiques dans la phase II de métabolisation favorisant leur élimination de l'organisme (**Leaver et al., 1992 ; Malmezat et al., 2000**). Ces



substrats peuvent être des molécules endogènes, mais aussi des xénobiotique comme les pesticides. (Habig *et al.*, 1974 ; Vijayan Magesh *et al.*, 2017 ; Yu Cheng Zhu *et al.*, 2017).

II.2.2.3 Les biomarqueurs d'effet

Ils traduisent l'altération d'un organisme, d'une population, d'une communauté à un contaminant ou un groupe de contaminants. Ce qui ne permet pas de fournir des indications selon la nature de la contamination (Delpage. 1994).

II.2.2.4 Biomarqueur de sensibilité

Ce sont des composés qui traduisent les variations de la sensibilité. Cette variation peut être une diminution de la sensibilité. Elle est alors appelée résistance. Cette dernière a été beaucoup étudiée chez plusieurs espèces du milieu différents (Beatrice Gagnair *et al.*, 2010 ; SIFI K *et al.*, 2007) , il existe des biomarqueur de sensibilité tel que glutathion s transférase(GST) (Vijayan Magesh *et al.*,2017) et les monooxygénases du cytochrome P450 enzyme qui joue un rôle important dans la première phases de détoxification pour métaboliser les xénobiotiques, y compris les composés phytochimiques et insecticides (Mao *et al.*, 2009). La plupart des insectes contiennent 80 gènes du cytochrome P450 ou plus alors que *A. mellifera* n'a que 46 gènesP450 (Claudianos *et al.*, 2006).

II.2.2.5 Les biomarqueurs de défense

Ils traduisent une acclimatation/adaptation au stress comme la mise en place chez les organismes exposé de divers mécanismes de détoxification et de métabolisation des xénobiotiques (De Lafontaine *et al.*, 2000).

II.2.2.6 Les biomarqueurs de dommage

Ils traduisent un véritable dommage quantifiable chez l'organisme exposé. Ces biomarqueurs peuvent être de différents types comme par exemple l'inhibition de l'activité ACHE, le dommage à l'ADN, et perturbation de reproduction. (De Lafontaine *et al.*, 2000).



II.2.1.6 Mécanisme d'action du système de détoxification

a-Phase I

Les réactions de phase I permettent l'inactivation des composés toxiques et font intervenir majoritairement des réactions d'oxydation, de réduction, et d'hydrolyse, la biotransformation de nombreux produits chimiques impliquent de nombreux processus Oxydatifs. Un très grand nombre de réactions d'oxydation est catalysé par des cytochromes P450 (**De Franco. 2009**).

b-Phase II

Lors de la phase II, les molécules toxiques ou les métabolites intermédiaires de la phase I subissent une conjugaison. L'association avec un transporteur polaire endogène permet la génération de conjugués plus hydrosolubles et donc plus facilement excrétés (**De Franco. 2009**).



***MATERIELS ET
METHODES***



I. Présentation de matériel Biologique

On a réalisé une toxicité d'un produit phytosanitaire décisi EC 25 dont la matière active est la deltaméthrine sur l'abeille *Apis mellifera intermissa*, elle est de grande de taille et à pigmentation uniformément foncée avec quelque fois de nombreux éclaircissement peu nets sur les tergites abdominaux et scutellum. La longueur de la langue est de 6.5 mm en moyenne. Le tomentum est étroit ; la pilosité est courte ; l'indice cubitale est très variable (2.2 mm en moyenne). (Ruttner. 1975).

II. Echantillonnage et collecte des abeilles

L'échantillonnage a été réalisé de façon aléatoire sur une ruche à hausse et sur les abeilles butineuses, la station du ruche située au niveau de l'université Djilali Bounaama khemis Miliana, loin des terres agricoles qui utilisée les pesticides, donc les abeilles sont en bonne état sanitaire, le prélèvement se fait au niveau de l'entrée de la ruche à la main à l'aide des boites de plastique.



Figure 03 : Echantillonnage des abeilles

(Photo personnel)



Figure 04 : le site des ruches des abeilles

(Photo personnel)



III. Présentation du traitement d'étude

III.1 Décis EC 25 (Deltaméthrine)

La deltaméthrine la matière active du DECIS est un insecticide de la famille des pyréthrinoïdes qui agit principalement au niveau des canaux sodium des fibres nerveuses qu'elle bloque en position ouverte. (Rey. 2012).

III.2 Structure moléculaire

La Deltaméthrine ($C_{22}H_{19}Br_2NO_3$), a été synthétisée en 1974 puis commercialisée en 1977 (Leahey. 1985). Nom commun DECIS EC 25, et le nom Chimique [1R-[1 α (S*),3 α]-cyano (3-phenoxyphenyl) methyl 3-(2,2dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate, parmi les pyréthrinoïdes, celle-ci est considérée comme la plus toxique, car elle n'est ni jamais complètement dégradé ni rapidement métabolisée et de ce fait s'accumule dans les lipides (Sayeed et al., 2003).

La deltaméthrine a un temps de demi-vie compris entre 32 et 53 jours, mais dans une eau de mare faiblement acide (pH=5), ce temps dépasse 3 ans (Adamou et al., 2010).

L'état physique est liquide, Poids moléculaire 505,2g/mol. T° de fusion : 100-102C°, solubilité dans l'eau 0,0002 mg/l, UV/VIS absorption max At 267,271 and 278nm.

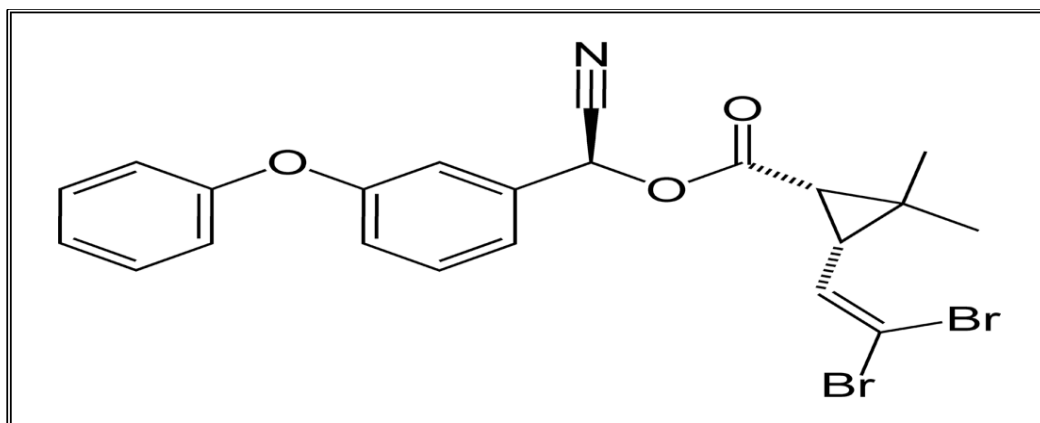


Figure 05 : Structure moléculaire de la Deltaméthrine (ANSES. 2010).



III.3 Utilisation de deltaméthrine

La deltaméthrine est très employée dans le secteur agricole et forestier et ce depuis qu'elle a prouvé son efficacité vis-à-vis de nombreux insectes (Villarini et al., 1998). La deltaméthrine est aussi utilisée dans les programmes de contrôle de la malaria dans les pays concernés (Yadav et al., 2001). Elle y est aussi utilisée pour imprégner les moustiquaires (Darriet et al., 1998).

III.4 Le mode d'emploi

Les agriculteurs utilisent cette molécule sur toutes cultures (cultures légumières, céréales, plantes oléagineuses...), arbres fruitiers, cultures forestières (Cluzeau & Paternelle., 2000 ; Worthing. 1979; Nabti. 2015).

III.5 Mode d'action de deltaméthrine

Le mode d'action doit être essentiellement central dans l'action, où au moins provenir des centres nerveux supérieurs du cerveau.

La mort des insectes semble être due à des dommages irréversibles au système nerveux survenant lorsque l'empoisonnement dure plus de quelques heures. (Hasibur et al., 2014).



Figure 06: Présentation de DECIS EC 25 (photo personnelle).



IV.Méthode de travail expérimentale

Principe :

Le présent travail a pour but d'évaluer le système de détoxification chez les abeilles algériennes par une toxicité aiguë du DECIS par la voie orale ou d'ingestion avec une dose létale (DL50) de **20.92 ppm** obtenu après 24h d'exposition du même traitement au laboratoire d'animale appliquée (**Nabti. 2015**).

Nous avons réalisé une toxicité sur 6 lots divisés en trois séries témoins et trois traités ces dernières sont placées dans des vers en plastique a une hauteur de 6.5 cm et un diamètre de 4 cm couvrant par un Tilos , après on a dessiné un cercle avec un marqueur rose sur la face de ventilation afin de verser tout doucement une goutte du sirop contaminé après un jeûn de 2 heures (OECD/OCDE.1998a) ; Un deuxième lot considéré comme des séries témoins sont met dans des cadres en plastiques avec ces dimension (longueur*largeur*hauteur) (15.5*10.5*10.5) bien ventilée. Après les étapes de l'administration du produit nous avons réalisé un dosage enzymatique de la GST selon **Habig et al (1974)**.

La méthodologie de notre travail est schématisée dans la figure suivante :

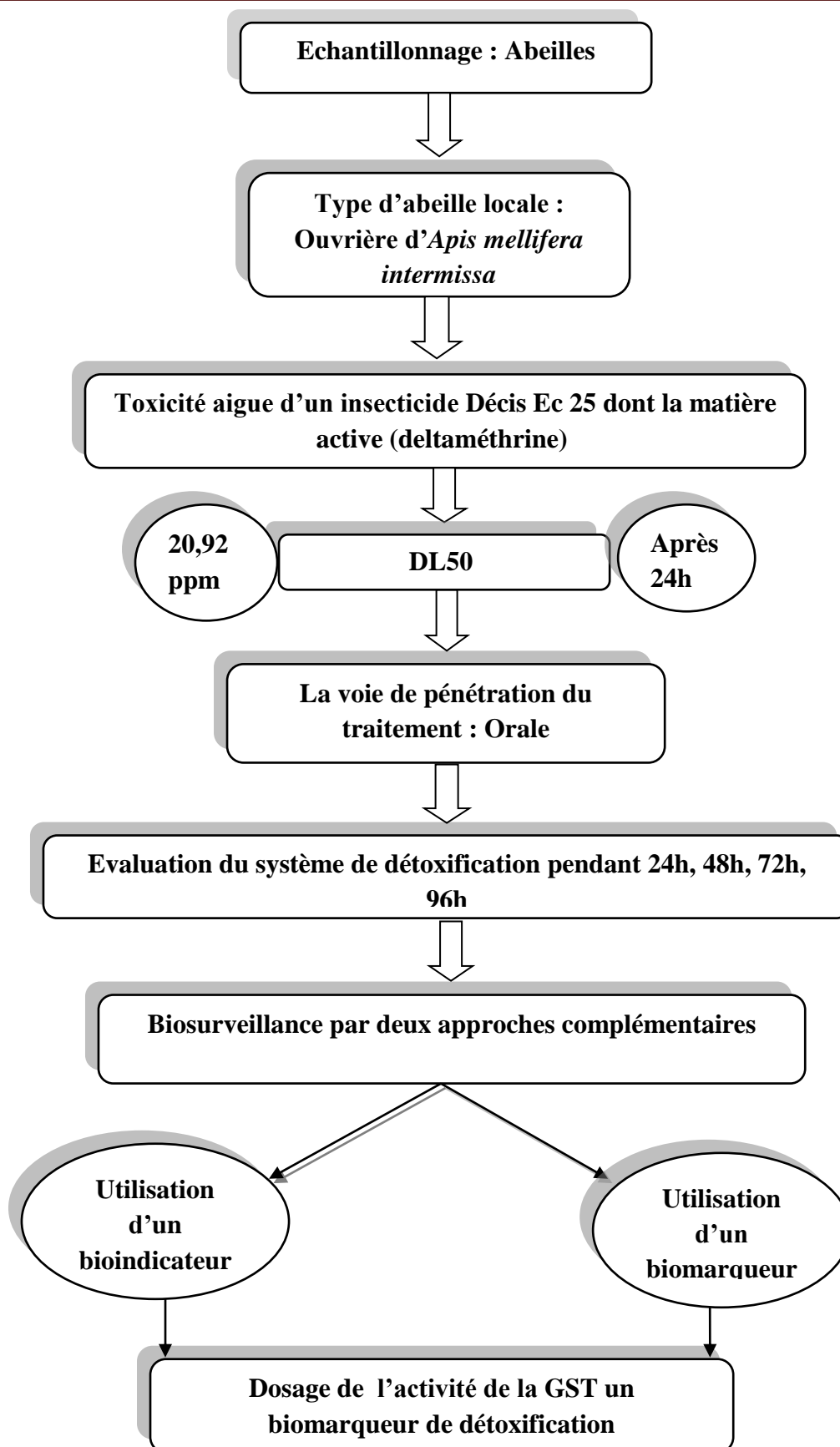


Figure 07: Méthode expérimentale de toxicité d'un insecticide de la famille chimique des pyréthrinoïdes à l'égard d'*Apis mellifera intermissa*



V. Présentation de matériel d'analyse

V.1 Matériel expérimentale

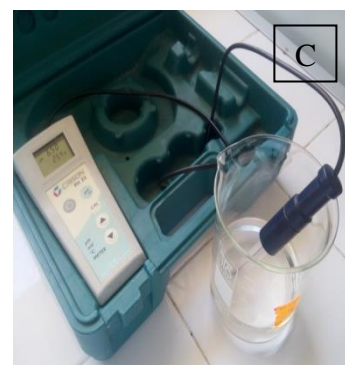
Plusieurs matériels expérimentales a été utilisé: béchers, pipette 1000 μ l, micropipette 100 μ l, balance de précision, ph mètre, agitateur, centrifugeuse à froid, broyeur à ultrasons, baros, fiole, spectrophotomètre, éppendorfs, boîte de pétrie, matériels de dissection.



A. Agitateur



B. Balance de précision



C. pH mètre



D. Centrifugeuse à froid



E. Broyeur à ultrasons

Figure 08 : Matériels utilisés dans le travail expérimental (A; B; C; D; E) (photo personnel).

V.2 Produits utilisés

GSH (glutathione réduit), CDNB (chlorodinitrobenzène), NaOH, HCl, Tampon phosphate, éthanol, paraffine, BBC (bleu brillant de Coomassie).



VI. Protocol expérimental

Afin de déterminer l'activité de GST, on a respecté les étapes suivantes de **Habig et al (1974)** et (OCDE) pour l'application du traitement.

VI.1 Méthode d'application du DECIS EC 25

VI.1.1 Application orale

Avant le traitement, les abeilles sont soumises à jeûn pendant 2 heures dans une enceinte climatisée à une température de $25^{\circ} + 2^{\circ}\text{C}$, et une humidité de 50 à 70%. Ainsi que l'obscurité, pour favoriser le phénomène de trophallaxie (échange de nourriture) et ce afin d'induire un même niveau d'appétit. Chaque abeille est nourrie de 10 μL d'une solution de sucre (saccharose) et 10 μL de traitement (Décis Ec 25+l'eau distille) qui est le produit à examiner avec une concentration de 20.92 ppm, a été déterminé par l'équation suivante :

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

- **C1** 25000ppm
- **V1** volume du contaminant en μL
- **C2** Doses utilisé (20 ,92ppm)
- **V2** Volume de l'eau distille utilise

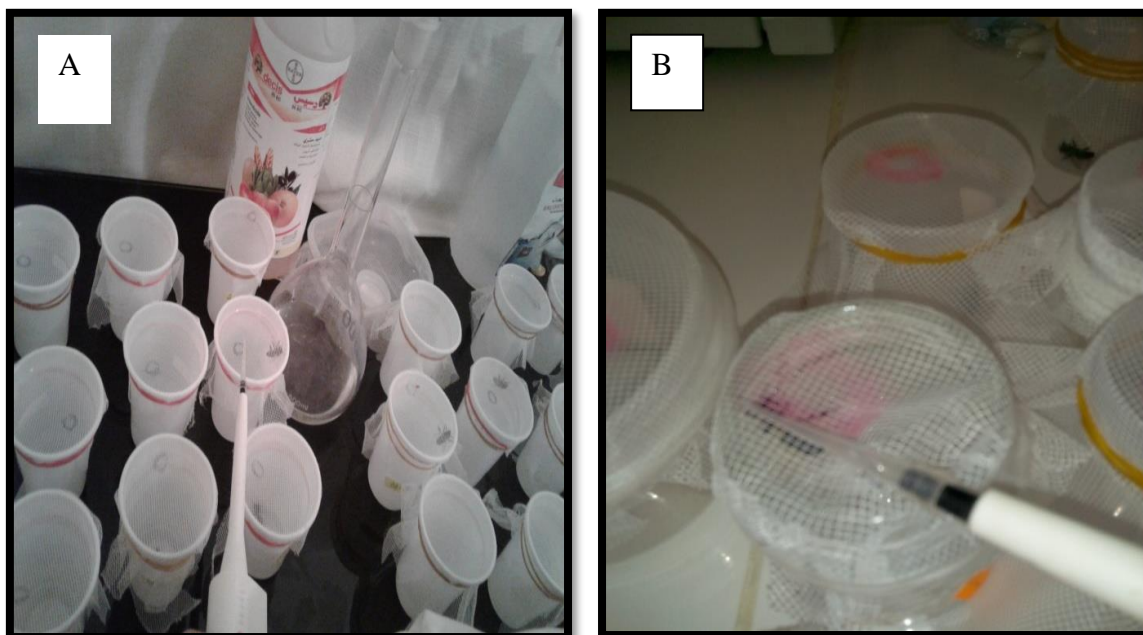


Figure 09 : Application orale de DECIS EC 25 A, B (photo personnel).



VI.1.2 Valeur de la DL50 des abeilles

Une valeur de la $DL_{50}=20.92\text{ppm}$ de DECIS EC 25 a été administrés oralement sur les abeilles d'*Apis mellifera intermiss* (Nabti. 2015 ; OECD/OCDE. 1998).

VI.2 Dissection et conservation

VI.2.1 Dissection

Pour une anesthésie naturel nous avons met l'échantillon dans le congélateur pendant 2min, après on le fixe latéralement (*Apis mellifera intermissa*) dans une boîte de pétrie sur (paraffine) avec des pinces, on a réalisé la dissection des différents organes (séparation de la tête du reste du corps) en utilisant un ciseaux. Les corps sont conservées dans un 1 ml de tampon phosphate pour le dosage du GST.

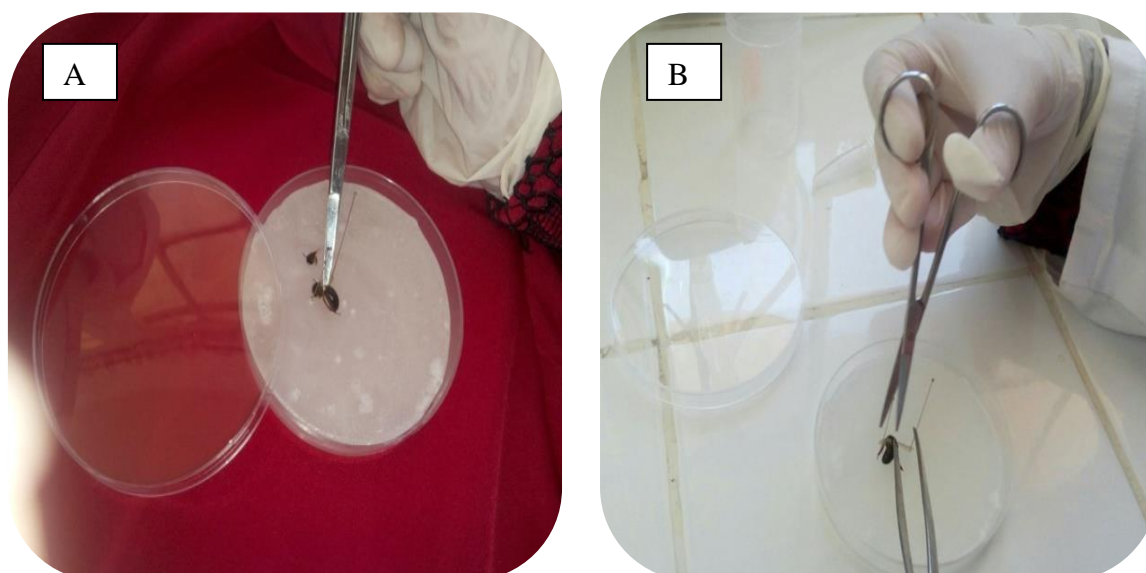


Figure 10 : Dissection d'une abeille (A ; B) (photo personnelle).

VI.2.2 Préparation de solution de conservation (Tampon phosphate)

On a mesure avec une balance de précision 4.451g de NaH_2PO_4 et 4.751g de $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ et on ajoutant à chacun 125ml de l'eau distillé, et leur rendre à l'aide d'un PH mètre une valeur de PH à 6.5 (on a ajouté quelque goutte d' HCl). On ajouté un volume de 1 ml de cette solution pour chaque échantillon.



Figure 11: Mesure de pH de tampon phosphate (solution de conservation).

VI.3 Dosage de glutathion S transférase GST

La mesure de l'activité des GSTs consiste à fournir à l'enzyme un substrat (en général du chlorodinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et du glutathion. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde. Il est possible de quantifier cette absorption au moyen d'un spectrophotomètre et la valeur de la densité optique mesurée à 340 nm est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formée, elle-même liée à l'intensité de l'activité GST (**Habig et al., 1974**). En vue de l'estimation de l'activité spécifique de GST, les corps (sans têtes) des abeilles adultes témoins et traités sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate¹ (0,1M; pH6) broyage manuel à l'aide d'un micro ciseaux après à l'aide d'un broyeur à ultrasons (92-IIDN). L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (13000 tours/min pendant 30 min), et le surnageant récupéré servira au dosage enzymatique de la GST. Les mesures de l'activité GST globale ont été réalisées en utilisant le CDNB (1-Chloro, 2,4-Dinitro Benzène) qui est un substrat des différentes isoenzymes de la GST, ce qui permet la mesure globale des activités GSTs. Le protocole de dosage est réalisé comme suit : une fraction du surnageant 20 μ l et ajout à 50 μ l de CDNB et 100 μ l GSH dans 830 μ l tampon phosphate (PH=6,5). La lecture se fait par un blanc préparé dans même condition sans le surnageant ; les densités optiques sont mesurées toutes les minutes pendant 5 min à 340 nm dans spectrophotomètre.



VI.3.1 Préparation des solutions d'analyses



0.0765g de GSH+25ml de l'eau distillé

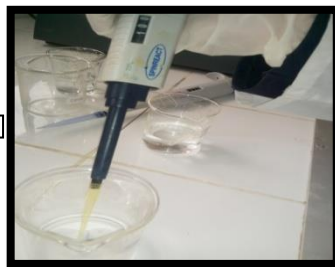


0.0057g de CDNB+1.25ml de l'éthanol

***Pour le blanc :**



830µL tampon phosphate

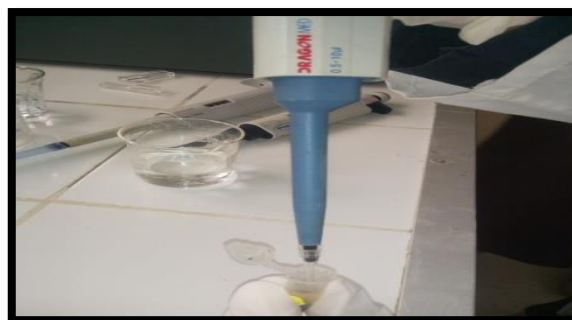


100µL de GSH



50µL de CDNB

***Pour l'échantillon, on ajoute à la cuve :**



20µl de surnageant

Figure 12: Les étapes de préparation de solution d'analyse



VI.4 Dosage des protéines

La quantification des protéines a été faite selon **Bradford (1976)** sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat, avec le bleu brillant de Coomassie (G 250, Merck) comme réactif (50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et complété à 500 ml avec l'eau distillée). L'albumine de sérum de bœuf (Sigma, France) a été utilisée comme standard. Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, et la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution d'albumine à 1 mg/ml.

VII. Analyse statistique

Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type et des taux établis sur les nombres des répétitions précisés dans les figures et les tableaux.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel MINITAB version 16.01 Fr. Les résultats obtenus par le dosage de biomarqueur subissent une analyse de la variance à un et deux critères de classification.



RESULTS
ET
INTERPRETATION



I. Résultats & Interprétation

I.1. Choix de la dose létale DL₅₀

La CL₅₀ (20,92ppm) du DECIS 25 a été obtenu par Djahida Nabti. 2015. Un effet très nocif a remarquable après une pénétration orale de ce xénobiotique (**Nabti. 2015**) traduisant par une mortalité importante chez les adultes d'*Apis mellifera intermissa*.

Après une exposition de 24h avec le DECIS EC25 à différentes concentrations les mortalités observées sont corrigées par la formule **d'abbott (1925)** qui montre l'effet réel des différentes concentrations. Une transformation angulaire des mortalités corrigées a été effectuée. Par la suite une transformation des moyennes des mortalités corrigées en probits et les concentrations testées en logarithmes décimaux a été réalisée en déterminant l'équation de la droite de régression mentionnée dans le tableau 2 dont le coefficient de détermination ($R^2=97$) révèle une liaison très forte entre les probits et les logarithmes décimaux. Les concentrations létales CL₅₀ sont estimées à partir de l'équation et la droite de régression (Tableau 02).

Tableau 02: Toxicité du DECIS EC25 (ppm) à l'égard des ouvrières d'*A. mellifera intermissa* après une exposition orale de 24h : analyse des Probits de la CL₅₀. (**Nabti. 2015**)

Traitement	Droite de régression	Slope	Cl 50(IC)
DECIS EC 25 (Déltamethrine)	$Y=3,27+1,31 X$ $R^2=97\%$	5, 34	20,92 ppm

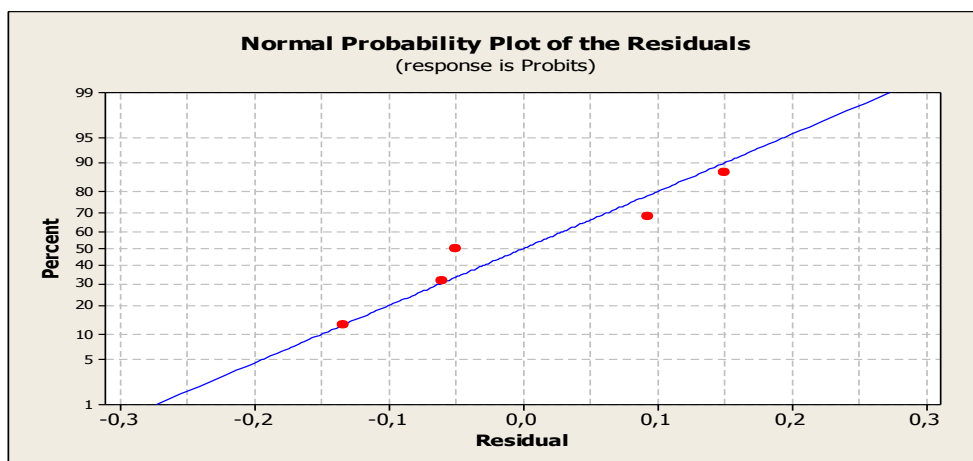


Figure 13 : Droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des ouvrières (exposition orale de 24h) en fonction des logarithmes décimaux des concentrations. **Nabti. 2015.**

I.2. Dosage de protéine

Le dosage de glutathion a été mesurés au niveau d'organe (Corps entier de l'abeille) des adultes femelles d'*Apis mellifera intermissa* témoins et traités. La quantification des protéines a été mesurées à partir de la droite de régression de la courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (Tableau 03) représentent les droites utilisées pour le calcul des taux de protéines.

Tableau 03: Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4



I.3. Effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de Glutathion-S transférase GST

Après une exposition du DECIS EC 25 de 24h, 48h, 72 et 96h respectivement à une concentration de (20.92 ppm).

Les résultats statistiques montrent une induction et augmentation de l'activité enzymatique durant le temps ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

Les glutathion S-transférases (GST) enzyme utilisé par les insectes pour détoxifier les insecticides (Carvalho *et al.*, 2013). Les estérases détoxifient de nombreux insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes en hydrolysant les fragments esters et en fabriquant des produits plus hydrophiles et moins toxiques (Dauterman, 1976). Les GST jouent également un rôle dans la défense antioxydant et améliorent les effets du stress oxydatif de l'exposition aux insecticides (Yunchuan *et al.*, 2005).

Les tableaux (04, 05, 06 et 07) ensuite les figures (14, 15, 16 et 17) représentent les résultats statistiques de l'effet de ce traitement sur les abeilles d'*Apis mellifera intermissa*.

I.3.1 Effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de Glutathion-S transférase GST pendant 24h d'exposition

Les résultats statistiques révèlent une valeur de l'activité de la GST des traitées qui est de ($5.0038 \pm 0.0091 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) par rapport au témoin qui est réduit ($3.7910 \pm 0.0055 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), ensuite nous avons enregistré une moyenne de la GST de l'abeille traitée qui est de ($4.4158 \pm 0.154 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) comparativement à la moyenne de témoin ($3.9020 \pm 0.0058 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), et pour la troisième activité on remarque une valeur importante de $6.2260 \pm 0.052 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines contrairement à l'activité spécifique du GST de témoin ($2.6090 \pm 0.015 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)

I.3.2 Effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de Glutathion-S transférase GST pendant 48h d'exposition

Après une exposition de 48h, l'activité enzymatique chez l'abeille traitée est de $4.2298 \pm 0.0161 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines comparativement au témoin qui présente une valeur minimale ($1.2578 \pm 0.033 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), et pour la deuxième activité estimée on remarque qu'il 'y a une légère reprise de ($2.7280 \pm 0.008 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), par rapport au lot témoin ($2.6351 \pm 0.0052 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), et le troisième lot on a obtenu une



moyenne de $4.0290 \pm 0.0100 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines par rapport la moyenne de témoin ($1.8620 \pm 0.0051 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

I.3.3 Effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de Glutathion-S transférase GST pendant 72h d'exposition

Les valeurs obtenus après l'exposition de 72h, révèlent une augmentation de la GST ($5.0400 \pm 0.147 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) par rapport le témoin ($4.2891 \pm 0.123 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), de même pour le deuxième lot du traitée ($4.2930 \pm 0.125 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) par rapport au témoin ou on a enregistré une valeur de GST de ($4.1130 \pm 0.058 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), et finalement nous avons signalé une moyenne de chez l'abeille exposé par le DECIS EC 25 de ($3.4630 \pm 0.069 \mu\text{M}/\text{mg}$)

I.3.4 Effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) sur l'activité de Glutathion-S transférase GST pendant 96h d'exposition

Les valeurs de la GST comprise entre 4.102 ± 0.166 et 4.322 ± 0.119 des traités comparativement aux témoins variant de 2.152 ± 0.087 et $2.836 \pm 0.096 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines. Les effets nocif de cette molécule stimule l'action de la GST par une augmentation de l'activité enzymatique de cette dernier ce qui est expliqué par l'action direct de ce polluant sur les abeilles. Ceci a été démontré par plusieurs auteurs et sur plusieurs espèces (**Sifi et al., 2007; Ferrari et al., 2007**).

I.4. Analyse de variance de l'effet de DECIS EC 25 après 24h d'exposition

La détermination de l'activité de GST a été réalisée par l'application de formule de **Habig et al (1974)**.

L'analyse statistique par l'ANOVA 1 présenté dans le tableau (analyse de variance un critère de classification) révèle une différence hautement significatif ($p \leq 0.001^{***}$) entre les lots témoins et traitées, une moyenne de $6.226 \pm 0.015 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines (R_3) chez les abeilles traitées comparativement à la moyenne des témoins qui est de $2.609 \pm 0.052 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines (R_3).

L'exposition de la molécule présente des effets nocifs traduisant par une activité importante de la GST ceci a été observé de façon alarmante au niveau du troisième lots des abeilles testé. La toxicité aigue par la même dose létal (20,92ppm) confirme l'action direct de ce pyréthrianoïde, comparativement aux autres lot son on noté un intervalle de cette activité comprise les lots traitées de R_1 ($5.0038 \pm 0.0055 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) et R_2

Résultats & Interprétation



($4.4158 \pm 0.0058 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines). contrairement aux témoins ou on a signalé des moyennes de l'activité enzymatique variant de (figure 14).

Tableau 04: Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d'*A. Mellifera intermissa* après 24h. L'analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	23.935	23.935	26.62	0.000***
Résiduelle	10	8.992	0.899		
Totale	11	32.927			

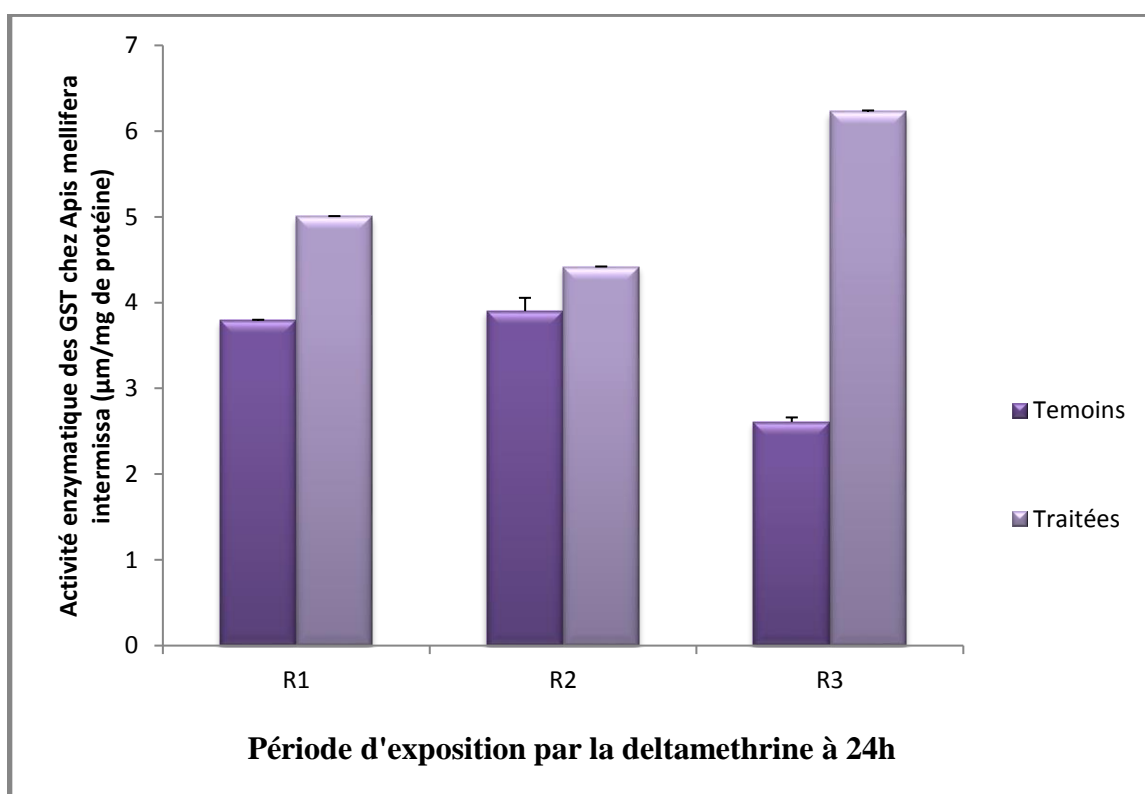


Figure 14: Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles de *Apis mellifera intermissa* ($m \pm \text{CE}$; $n = 3$) après 24 h.



I.5. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 48h

Le tableau présente l'ANOVA 1 Après 48h d'exposition on a enregistré une moyenne de $(4.2298 \pm 0.0161 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) de (R_1) par rapport au série témoins qui présente une valeur de $(1.2578 \pm 0.033 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), la comparaison des différents activités du GST par l'analyse a révèle une différence significative avec une valeur de ($p=0.034^*$) ($P \leq 0.05^*$). L'études comparative de la GST des différents lots traitées révèlent une induction de ce biomarqueur de détoxification (tableau 05) (figure 15), ce qui est expliqué par l'action stimulatrice de ce insecticide sur l'espèce *d'Apis mellifera intermissa*. Ce qui justifie que la GST joue également un rôle dans la défense antioxydante et améliorent les effets du stress oxydatif de l'exposition du DECIS EC 25 comme insecticide de la famille chimique des pyréthrinoïdes (Yunchuan et al., 2005).

Tableau 05: Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d'*A. Mellifera intermissa* après 48h: L'analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	4.994	4.994	5.99	0.034*
Résiduelle	10	8.345	0.834		
Totale	11	13.339			

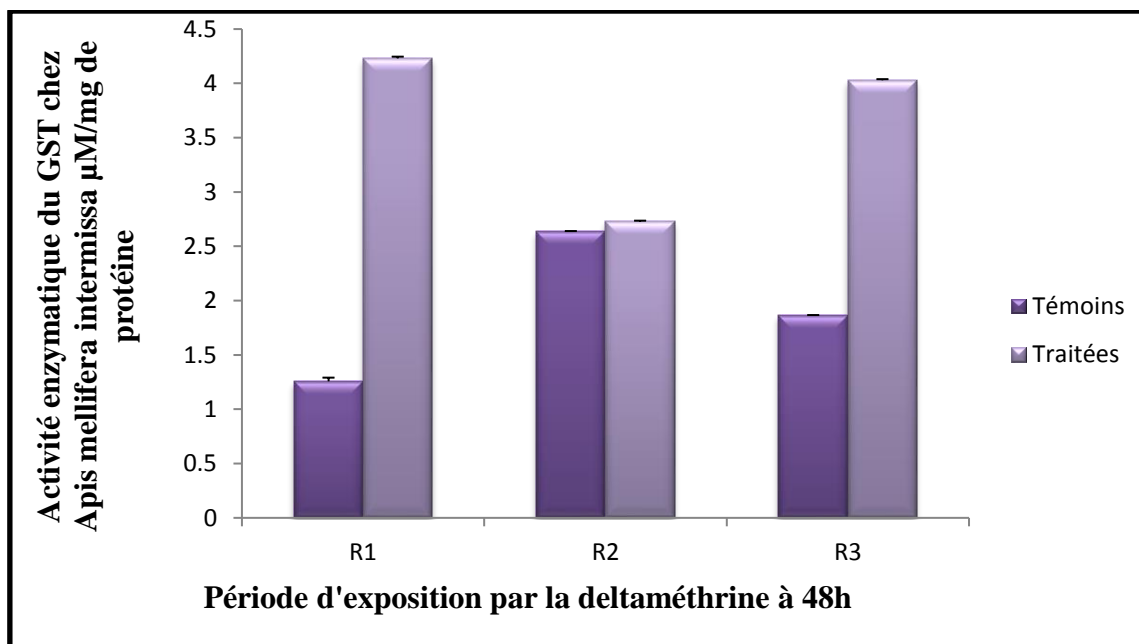


Figure 15: Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de DECIS EC 25 à une $\text{DL}_{50}=20,92\text{ppm}$ chez les adultes femelles de *Apis mellifera intermissa* ($m \pm \text{CE}$; $n=3$ chaque lot contient 10 abeilles) après 48 h.

I.6. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 72h

Le résultat obtenu (tableau 06) sur l'activité de GST montre une moyenne de ($5.04 \pm 0.147 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) de (R_1) comparativement à une série témoin ($4.2892 \pm 0.123 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), l'analyse statistique par l'ANOVA 1 révèle une différence hautement significative ($P \leq 0.001^{***}$). la figure 16 présente les effets du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d'*Apis mellifera intermissa* ou on signalé une légère augmentation ($4,2930 \pm 0.125 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les séries traité du deuxième lots testé avec les témoins ($4.1130 \pm 0.058 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) ce qui est probablement due au système de détoxification de cet enzyme qui fait la dilution de ce polluant et l'action immunitaire des abeilles. des moyennes de l'activité du glutathion-s transférase (GST) réduits a été enregistrés chez les différents lots témoins ($3.4630 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines ; $2.3960 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) respectivement.



Tableau 06: Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d'*A. mellifera intermissa* après 72h. L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1)

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	17.749	17.749	31.71	0.000***
Résiduelle	10	5.598	0.560		
Totale	11	23.347			

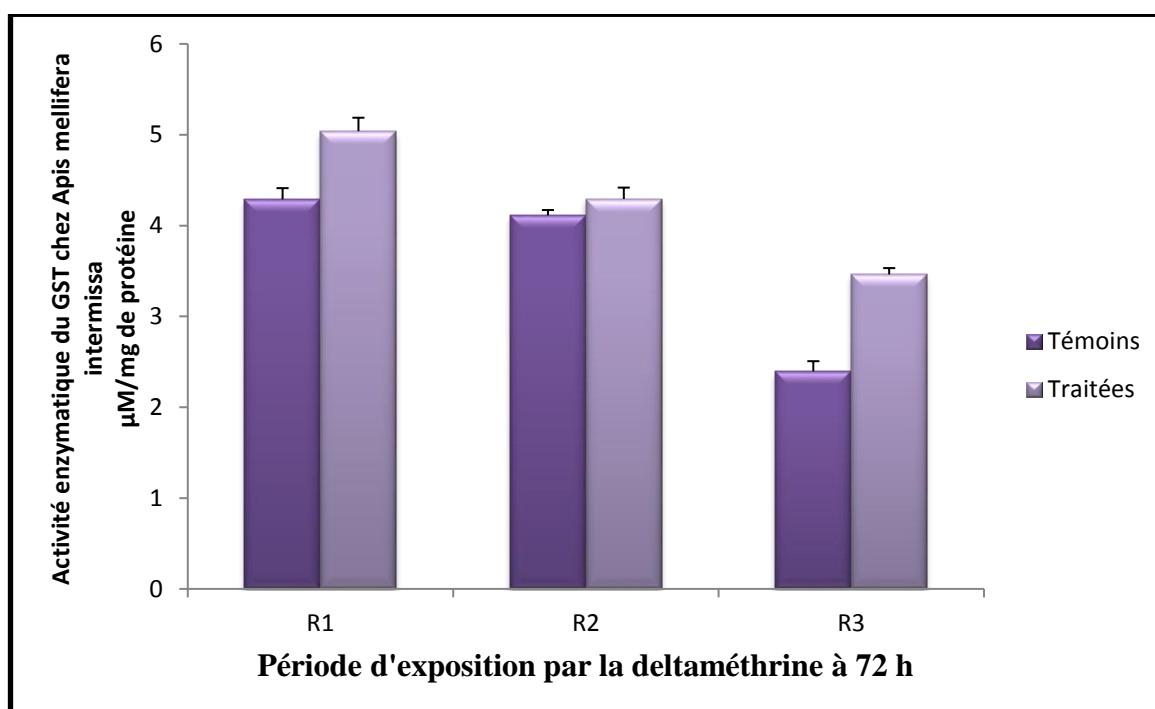


Figure 16: Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 avec la DL50 (20,92 ppm) chez les adultes femelles de *Apis mellifera intermissa* ($m \pm \text{CE}$; $n = 3$; chaque lot contient 10 abeilles) après 72 h.



I.7. Analyse de variance de l'effet de Décis EC 25 (deltaméthrine) après une exposition de 96h

Concernant les résultats obtenus après l'exposition de 96h la moyenne des traitées ($4.322 \pm 0.119 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) (R_2) par rapport une série témoin $1.438 \pm 0.085 \mu\text{M}/\text{mg}$, révèle une différence significative avec une valeur de 0.012 ($P \leq 0.05^*$).

L'activité enzymatique de la GST a été noté par une augmentation après une exposition aigu du même traitement. les moyennes enregistrées chez les lots traitées variant de ($4.155 \pm 0.204 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines ; $4.322 \pm 0.119 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines ; $4.102 \pm 0.166 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) comparativement aux témoins qui présente des valeurs réduits ($2.152 \pm 0.0871 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines ; $1.438 \pm 0.088 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines ; $2.836 \pm 0.096 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) expliquant l'effet et l'action direct de cette molécule, le biomarqueur montre l'état de cette action.

Plusieurs chercheurs examinant et testant l'état physiologique des abeilles par ce type de toxicité par plusieurs pesticides comme herbicide selon (Déo-Gracias et al., 2017) après 24h, 48h, 72h et 96h.

Tableau 07: Toxicité du DECIS EC 25 à l'égard des ouvrières d'*A. Mellifera intermissa* après 96h : L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	1	8.342	8.342	9.46	0.012*
Résiduelle	10	8.814	0.881		
Totale	11	17.155			

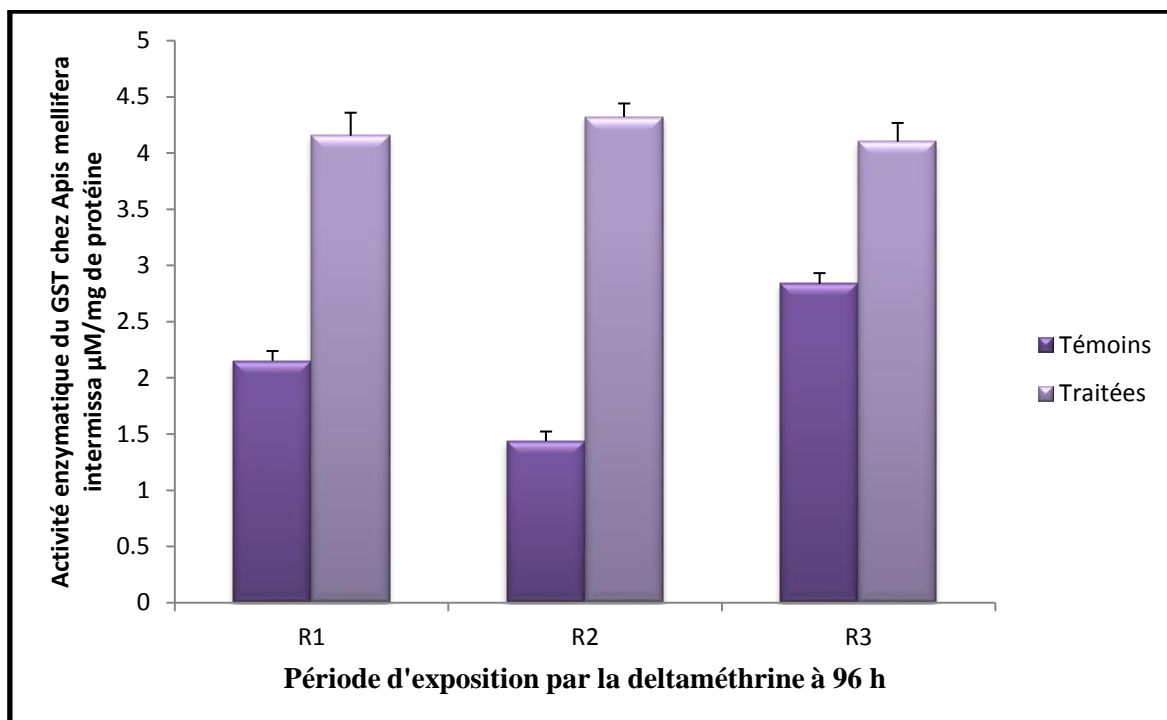


Figure 17: Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de DECIS EC 25 chez les adultes femelles de *Apis mellifera intermissa* ($m \pm \text{CE}$; $n = 3$ chaque lot contient 10 abeilles) après 96 h.

I.8. Comparaison de l'activité spécifique de la GST après 96h d'exposition par le DECIS EC25 (Deltaméthrine)

Le tableau 08 montre que le DECIS EC 25 (Deltaméthrine) administré dans le sirop et appliqué par la voie orale chez les abeilles *Apis mellifera intermissa* provoque une augmentation significative ($p = 0,000^{***}$) de l'activité de la GST pendant 24h avec une moyenne ($5.2152 \pm 0.9234 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) comparativement aux témoins ($3.434 \pm 0.7166 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

Suite à cela on observe une légère reprise de moyenne ($3.6313 \pm 0.8685 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) après 48h d'exposition ceci été expliqué par la mise en place de système de détoxification. La diminution de l'activité du GST est expliquée par le mécanisme d'adaptation et de résistance chez les abeilles. Une différence significative ($p = 0,034^*$) entre les série témoins et traitées a été signalée.

Après 72h, 96h on a noté une augmentation de l'activité de glutathion S Transférase (GST) remarquable ($4.2653 \pm 0.7888 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines), $4.193 \pm 0.1148 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines respectivement. Les analyses statistiques révèlent une différence hautement



significative ($p=0,000^{***}$) après 72h d'exposition du même traitement par rapport à 96h d'exposition par la même molécule qui présente une augmentation significative de ($p=0.012^*$).

Tableau 08 : Etude comparative des moyennes estimées chez les abeilles traitées et témoins

Traitement	Durée d'exposition (heures)			
	24	48	72	96
Témoins	M ±SE 3.434 ± 0.7166	1.9492 ± 0.7389	3.5993 ± 1.0458	2.142 ± 0.6990
Traitées	5.2152± 0.9234	3.6313 ± 0.8685	4.2653± 0.7888	4.193 ± 0.1148

I.9. Etude comparative de l'activité de la GST par l'ANOVA

Le tableau ci dessus présent les résultats statistique de l'ANOVA à l'aide de logiciel MINITAB, facteurs traitement et temps à la fois et leur influence sur l'activité enzymatique chez les abeilles d'*Apis mellifera intermissa*. Les résultats statistiques montrent une différence significative entre les deux lots étudiés traités et témoins avec une valeur de ($p \leq 0.000^{***}$), au niveau de facteur temps, de plus nous avons aussi remarqué qu'il ya une signification par la présence de l'insecticides traduisant ($p=0.014$) a été enregistré, mais aucune signification n'a été signalé par au niveau de l'interaction des deux facteurs (temps et traitement) (tableau 09, figure 18).



Tableau 09 : Etude comparative de l'activité de la GST chez les abeilles *Apis mellifera intermissa* : Analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2).

Sources	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	1	14.3231	14.3231	23.46	0.000***
Traitement	3	8.8177	2.9392	4.81	0.014*
Interaction : Temps/traitement	3	1.6550	0.5517	0.90	0.461NS
Erreur résiduelle	16	9.7695	0.6106		
Totale	23	34.5652			

P: Niveau de significatif

NS: non significative

***** Significative $p \leq 0.05$

****** très significative $p \leq 0.01$

******* Hautement significative $p \leq 0.001$

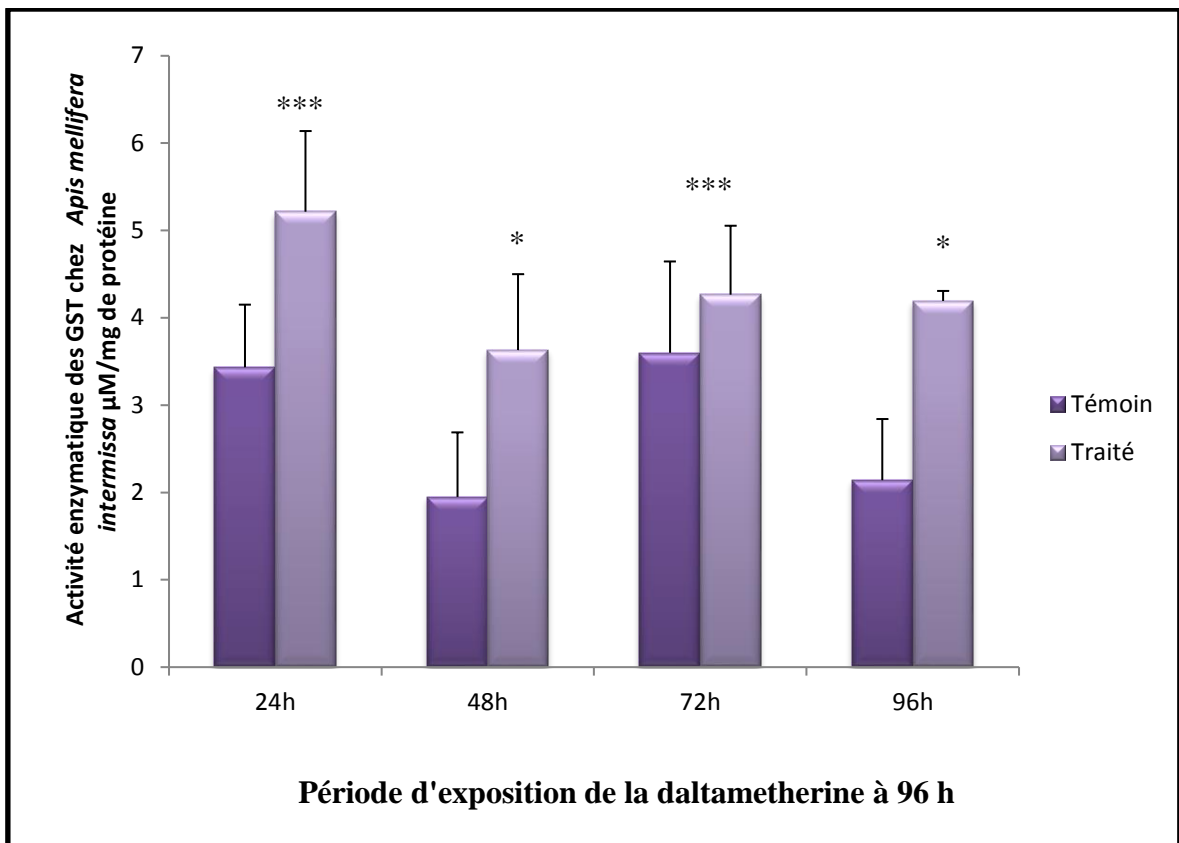


Figure 18: Activité du GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$) après une exposition de Décis EC 25 chez les adultes femelles de *Apis mellifera intermissa* ($m \pm \text{CE}$; $n=3$; chaque lot contient 10 abeilles) après 96 h.



DISCUSSION



II. Discussion

L'abeille domestique est un des principaux pollinisateurs des plantes et des arbres fruitiers entomophiles. L'impact de sa disparition serait désastreux pour l'agriculture et la biodiversité. L'abeille est pourtant soumise durant toute sa vie à de nombreux stress toxiques environnementaux et iatrogènes. La détermination du risque toxique encouru par les abeilles est donc une nécessité absolue pour sa protection. Les expositions aux pesticides perturbent divers paramètres physiologiques, biochimiques, anatomiques et comportementaux (**Hyne & Maher., 2003**).

Les insecticides présentent un facteur de risque major sur les abeilles et d'autres insectes pollinisateurs (**connolly. 2013**). d'autres facteurs de stress apparait ces dernier décennie (**potts et al., 2010a; Ollerton et al., 2014 ; potts et al., 2010b**). Plusieurs travaux ont été réalisés sur les produits phytosanitaires utilisées par les agriculteurs qui perturbent la survie et la santé des abeilles (**Franziska D et al., 2018**). La deltaméthrine est un pyréthrianoïde de synthèse employée à très faible dose et très répulsive pour les abeilles (**Christian et al., 1983**). Elle est très nocif aussi bien sur la flore que la faune (**Barré et al., 2008**). Des études ont montré les effet toxiques(in vitro et in vivo) de cette molécule sur quelques espèces (**Farhang et al., 2017 ; (Alyssa et al., 2018)**, d'autre produits phytosanitaires comme les insecticides (phosalone et pirimicarb), acaricide (propargite), insecticide et acaricide (fenpropathrin), ont été testés afin de déterminer la DL50 après 24h,48h,72h et 96h (**Farhang et al., 2017**).

Les exigences réglementaires actuelles pour la toxicité des insecticides contre les insectes non ciblés se concentrent sur l'abeille *Apis mellifera* (L., hymenoptera :Apidae), mais cette espèce ne peut pas représenter toutes les espèces d'insectes pollinisateurs en termes de réponse aux insecticides.

L'évaluation ecotoxicologiques est basée sur deux approche complémentaires: les biomarqueurs et les bioindicateurs (**Viarengo et al., 2007; Vindimian. 2014**).

Les biomarqueurs est «une caractéristique objectivement mesurée et évaluée comme un indicateur de processus biologiques normaux, processus pathogènes ou réponses pharmacologiques à un traitement intervention. (**Palmer et al., 2013**). Le principal intérêt des biomarqueurs est qu'ils permettent une évaluation intégrée dans le temps, tant en terme de présence qu'en terme des effets (des xénobiotiques).

Les xénobiotiques (de nature souvent lipophile vont pénétrés sans aucune difficulté (à l'intérieur de cellule), ensuite accumulés, et enfin les cellules développent des mécanismes



de biotransformation afin d'inactiver ces insecticides, en mettant plus au moins hydrosolubles et facilite leurs excrétion.

Une évaluation du système de détoxification a été réalisée sur les abeilles d'*Apis mellifera intermissa* utilisant le glutathion-s-transférase. Les GST jouent un rôle dans la défense antioxydante et améliorent les effets du stress oxydatif de l'exposition aux insecticides. (Yunchuan et al., 2005).

Le GST est un enzyme détoxifiante qui catalyse la conjugaison d'une variété de substrats électrophiles au groupe thiol du glutathion (GSH), produisant des formes moins toxique, et il semble contribuer contre les dommages oxydatifs. (Mohamed et al., 2015). Chez les insectes, les GSTs représentent un mécanisme très important de détoxification dus à leur participation dans la résistance aux insecticides (Motoyama & Dauterman, 1980; Clark et al., 1985; Fournier et al., 1992; Kostaropoulos et al., 2001; Papadopoulos et al., 2004; Yu, 2004). Ce système actif d'enzymes de détoxification chez les abeilles est situé majoritairement à deux emplacements stratégiques: l'intestin et le corps gras (Diao et al., 2006).

Les GST constituent un mécanisme intracellulaire important de détoxification, les abeilles ont des systèmes enzymatiques détoxifiants actifs qui jouent un rôle important dans l'élimination des substances nocives avec les quelle les abeilles entre en contact (Loucif-Ayad et al., 2008). une étude réalisé sur les effets secondaire des pesticides sur l'activité biologique du GST chez les abeilles d'*Apis mellifera intermissa* (Loucif-Ayad et al., 2008).

L'exposition aux xénobiotiques, y compris les insecticides, altère les activités enzymatiques de détoxification par induction et inhibition (Terriere. 1984). Les biomarqueurs peuvent être classés selon différents critères en parle du domaine thérapeutique. (Colburn et al., 1970). plusieurs travaux ont été réalisé sur le biomarqueurs de détoxification (Pokhrel et al., 2018 ; Nabti et al., 2015 ; Finsterer et al., 2018).

Une augmentation (après 24h d'exposition) significative de la GST ou l'inhibition (après 48h d'exposition) sont justifiées et expliquées par l'états de stress, adaptation ou résistance de l'organisme et enfin l'efficacité de l'enzyme et son action contre le xénobiotique.

Cette résistance métabolique résulte de différents mécanismes provoquant soit une production plus importante d'enzymes de détoxification soit une meilleure efficacité de l'enzyme pour son substrat (Perry et al., 2011) , Cette conjugaison neutralise les sites



électrophiles des substrats pour protéger les différents composés de la cellule (**Enayati et al., 2005**). Elle rend également le substrat hydrosoluble facilitant ainsi son excrétion. Les GSTs ont été impliquées dans la résistance à différents insecticides appartenant aux organochlorés, aux organophosphorés et aux pyréthrinoïdes (**Li et al., 2007**). Ce phénomène de résistance aux changements environnementaux (**Marques, 2009**) permette surveiller l'évolution d'une contamination (**Kerckhove, 2012**).

Les GSTs ne seraient pas capables de métaboliser directement les pyréthrinoïdes mais elles seraient plutôt impliquées dans la séquestration de ces insecticides et la métabolisation des produits de peroxydation des lipides induits par ces mêmes insecticides (**Vontas et al., 2001; Kostaropoulos et al., 2001**).

Certaines de ces glutathion S-transférases ont la capacité de métaboliser certains insecticides comme le DDT (**Low et al., 2010**).

Nos résultats sont similaires à **Carvalo et al., 2013** qui a montré aussi une induction de la GST avec le même traitement d'étude de la DL₅₀ de 5.07 ng/abeille et 2.53 ng/abeille de deltaméthrine. plusieurs travaux ont été réalisés sur l'activité de la GST sur les abeilles (**Pokhrel et al., 2018**). **Xiao et al., (2006)** ont montré une augmentation de 5 à 10 % de l'activité GST chez le ver de terre *Eisenia fetida* exposé à l'herbicide acétochlore. Les travaux de **Contardo-Jara et Wiegand (2008)** suggèrent également l'utilisation de la variation de l'activité GST chez le ver de terre *Lumbriculus variegatus* comme un biomarqueur sensible de l'exposition à un polluant organique, l'atrazine. De même **Ferrari et al. (2007)** ont montré que les pesticides organophosphorés et les carbamates induisent des variations d'activité GST chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

Des études similaire on été effectués sur des coléoptères de dame convergents adultes, convergens de *Hippodamia* (*Guerin-Meneville*) ont montrés l'effet nocif d'un pyréthrinoïde (**Antwi et Peterson, 2009**).



CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES



Parmi les nombreuses menaces qui pèsent sur les abeilles, nous avons largement détaillé un cas des pesticides. Ils sont assurément néfastes pour *Apis mellifera intermissa*. Dans le cadre de cette étude, nous avons appliqué le traitement Décis EC 25 dont la matière active deltaméthrine sur les abeilles ouvrières de la race *Apis mellifera intermissa* par voie orale avec une dose létale $DL50=20,92$ ppm).

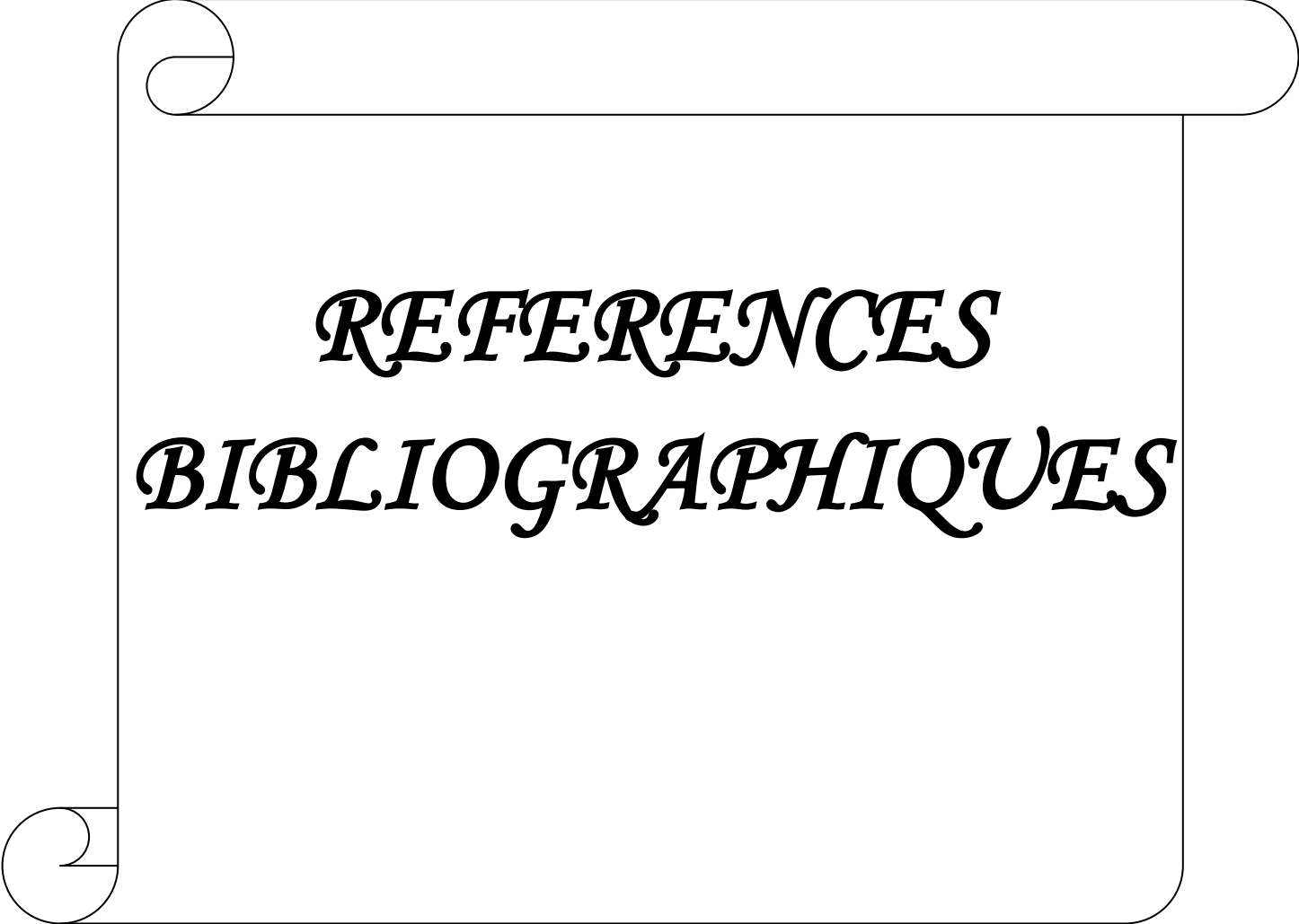
Le principe de ce travail est l'évaluation de système de détoxification par le dosage de l'enzyme glutathion-s transférase (GST) après 24h, 48h, 72h, et 96h de l'ingestion de traitement. L'insecticide (deltaméthrine) affecte le système de détoxification chez *Apis mellifera intermissa*. Nos résultats montrent qu'il y a un effet toxique sur les espèces d'abeille testées induisant une augmentation significative de la GST suite à l'exposition des abeilles de ce xénobiotique provoquant un stress toxique avec la mise en place d'un processus de détoxification chez les ouvrières d'*Apis mellifera intermissa*.

Les résultats statistiques par l'ANOVA 2 révèlent une différence hautement significative par le facteur temps ($p=0.000^{***}$) ainsi qu'une différence significative au niveau traitement ($P=0.014^*$) mais aucune signification n'a été enregistrée entre les deux facteurs ($P=0.461$ NS). L'insecticide stimule l'action de l'activité enzymatique de ces biomarqueurs.

En perspective, on s'intéresse de continuer sur ce volet de recherche étudiant :

- ✓ Etudier d'autres biomarqueurs de système de détoxification comme : dosage de l'acétylcholinestérase «AChE » (biomarqueur de neurotoxicité), la catalase et le cytochrome p450.
- ✓ des études ecotoxicologiques des pesticides in vivo et in vitro sur les abeilles
- ✓ un test cytotoxique et génotoxique
- ✓ Test de reprotoxicité et l'impact du DECIS EC 25 sur le potentiel reproducteur chez les reines.

Cette molécule est toxique pour les abeilles et peut avoir des conséquences négatives sur leur survie. De ce fait, il est important de respecter d'une manière rigoureuse les doses préconisées en agriculture afin de protéger notre race locale contre ces perturbateurs, et améliorer un système de la biosurveillance en utilisant ce type et d'autres types de bioindicateurs et les biomarqueurs.

A decorative border resembling a scroll, with a horizontal bar at the top and a vertical bar on the left. The top-left and bottom-left corners are rolled up, and the top-right and bottom-right corners are rounded.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



A

- **Abbott W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ.Entomol.*, 18: 265- 267.
- **Abrol D.P. 2012.** *Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production.*, dordrecht heidelberg London. New York. ISBN. Springer., 94: 978-1941.
- **Achaleke J, Martin T, Ghogomu RT, Vaissayre M, Brévault T., 2009.** Esterase-mediated resistance to pyrethroids in field populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) from Central Africa. *Pest ManagSci.* 2009;65(10):1147–1154. doi: [10.1002/ps.1807](https://doi.org/10.1002/ps.1807)
- **Adamou A, Abdoulaye A, Soumaïla M, Moussa I, Coly A, Tine A & Ikhiri K., 2010.** Dégradation abiotique de la Deltaméthrine et de l'Etofenprox dans les eaux naturelles du Niger = Abiotic degradation of Deltamethrin and Etofenprox in Niger natural waters. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 29, 45–54.
- **Aguilar, R., Ashworth, L., Galetto, L. & Aizen, M.A., 2006.** Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology letters* **9**: 968–80.
- **Ait Aïssa S, Palluel O, Porcher J.M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INERIS.rapport. final. DRC., 79: 00-02.
- **Alyssa M, Piccolomini, Shavonn R Whiten, Michelle L Flenniken, Kevin M O'Neill, Robert K D Peterson., 2018.** Acute Toxicity of permethrin, deltamethrin, and etofenprox to the alfalfa leafcutting bee, Volume 111, Issue 3, 28 May 2018, Pages 1001–1005.
- **Anderson K.E, Sheehan T.H, Eckholm B.J, Mott B.M, DeGrandi-Hoffman G., 2011.** An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honeybee and hive (*Apis mellifera*). *Insect. Soc.*, **58**: 431-444.
- **ANSES. 2010.** Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Co-exposition des professionnels de la lutte antivectorielle au deet et aux insecticides. avis de l'anses et de l'AFSSAPS. Rapport d'expertise collective. Septembre 2010.
- **Antwi FB, Peterson RKD., 2009.** Toxicity to non-target insects after exposure to d-phenothrin and resmethrin. *Pest Manag Sci* p65:300-305.



- **Ariana A, Ebadi R, Tahmasebi G., 2002.** Laboratory evaluation of some plant essences.
- **Ashman T.-L, Knight T.M, Steets J.A, Amarasekare P, Burd M, Campbell D.R, Dudash M.R, Johnston M.O, Mazer S.J, Mitchell R.J, Morgan M.T, Wilson W.G., 2004.** Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* **85**: 2408– 2421.
- **Ayad-Mokhtari Nahida. 2012.** Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés, thèse magister en chimie organique (environnement).20p.

B

- **Badiou-Bénéteau A, Carvalho S.M, Brunet J-L, Carvalho G.A, Buleté A, Giroud B, Belzunces L.P., 2012.** Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicology and environmental safety*, **82**: 22-31.
- **Banaru D et Perez T., 2010.** Bio-indicateurs – Biomarqueurs, Notes de cours. Marseille, Université de Marseille ,15p.http://www.com.univmrs.fr/~boudouresque/Master_Oceanographie_Biologie_Ecologie_Marine/UE_363_PRO_1_cours_Banaru_Bioindicateurs_biomarqueurs_2010.pdf (Page consultée le 12 novembre 2013).
- **Barata C., Navarro J., Varo I., Riva M., Arun S. & Porte C., 2005.** Changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in *Daphnia magna* during the aging process. *Comp. Biochem. Physiol.*, **B140**: 81-90.
- **Barour C, Tahar A, Baylac M., 2011.** Forewing shape variation in Algerian honeybee populations of *Apis mellifera intermissa* (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae): A landmark based geometric morphometrics analysis. *African Entomology*, **19**(1): 11-22.
- **Barré N, Andrew Y. Li, Robert J, Miller C, Huguette Gaia, Delathière Jean-Michel, Ronald B. Davey, John E, George B., 2008.** In vitro and in vivo evaluation of deltamethrin and amitraz mixtures for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari : Ixodidae) in new caledonia. *Veterinary parasitology*, Elsevier. **155**; 110-119



- **Beatrice Gagnaire, Patrice Noury, Jeanne Garric., 2010.** *In vivo* indirect measurement of cytochrome P450-associated activities in freshwater gastropod mollusks. *environmental toxicology*.
- **Beisemeijer J.C, Roberts S.P.M, Reemer M, Ohlemüller R, Edwards M, Peeters T, Schaffers A.P, Potts S.G, Kleukers R, Thomas C.D, Settele J, Kunin W.E., 2006.** Parallel declines in pollinators and insect pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, **313**: 251-353.
- **Belzunces LP, Tchamitchian S, Brunet J-L., 2012.** Neural effects of insecticides in the honey bee. *Apidologie* 43,348-370.
- **Berkani M L. 2007.** Etude des paramètres de développement de l'apiculture Algérienne. Thèse de doctorat d'état, INA El-Harrach Alger. 233p.
- **Biri M. 2002.** Le Grand livre des abeilles cours d'apiculture moderne. Ed. De Vecchi Paris. pp.260.
- **Biri M. 2010.** Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Ed. De Vecchi. Paris.pp.302.14- 101p.
- **Bocquené G, Galgani F, Walker C.H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds), *Biomarqueurs en écotoxicologie: Aspects fondamentaux*. Masson, Paris, pp. 209-240.
- **Bocquené G, Galagani F., 2004.** Les marqueurs biologiques d'effets polluants : l'acétylcholinestérase.Ed. Ifremer, *Méthode d'analyse en milieu marin, versialles*, 28 p.
- **Booth J, Boyland E, Sims., 1961.** An enzyme from rat liver catalyzing conjugations with glutathione. *Biochem J.*1961;79(3):516
- **Bourg S. 2006.** Abeille et insecticides phytosanitaires. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 125 p.
- **Boyer TD. 1989.** Special article the glutathione S-transferases: An update. *Hepatology*. 1989;9(3): 486–496.
- **Bradbear. 2010.** Le rôle des abeilles dans le développement rural *Revue, organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome* 1, 17, 92, 95 p.



- **Bradford M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. *Anal.Biochem.* 72:248–254.
- **Braia F.M.H. 2009.** Toxicité comparée du malathion et du cadmuim à l'égard de *Donaxtrunculus* (Mollusca, Bivalvia) et mesures de biomarqueurs. thèse de magistère enécologie et environnement option toxicologie fondamentale et appliquée université d'Annaba., pp: 97.
- **Buttel-Reepen HV. 1906.** Apistica Beitragezur Systematik, Biologie, sowie zurges chichtlichenund geographischen Verbreitung der Honigbiene(*Apis mellifera* L.), ihrer Varietaten und der ilbrigen Apis-Arten.MitteilWigen aus dem ZoologischenMuseum im Berlin, 3: 121-196.

C

- **Cajaraville M.P, Bebianno M.J, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A., 2000.** The use of biomarker to assess the impact of pollution in coastale environments of the Ibrain Peninsula: a practical approach. *Sci. Tot. Environ* 247(2-3):295-311.
- **Calvet R. 2005.** Les pesticides dans le sol. edition france agricole 2005.
- **Carignan V, Villard M., 2002.** Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environmental Monitoring Assessment*, vol. 78, no 1, p. 45-61.
- **Caron DM. 1999.** Honey bee biology and beekeeping. Wicwas Press, LLC. Cheshire. 355p.
- **Carvalho SM, Belzunces LP, Carvahlo GA, Brunet JL, Badiou-Beneteau A., 2013.** Enzymatic biomarkers as tools to assess environmental quality: a case study of exposure of the honeybee *apis mellifera* to insecticides.2013Sep; 32(9):211724.doi:10.1002/etc.2288. E pub 2013 Jul 18.
- **Chahbar N. 2011.** effet d'un insecticide utilisé en protection des végétaux : thiamethoxam sur l'abeille saharienne *apis mellifera sahariensis* , journal Algérien de l'environnement aride, université Ouargla, N°02, 12p.
- **Charvet R, Katouzian-Safadi M, Colin ME, Marchand PA, Bonmatin JM., 2004.** Insecticides systémiques : de nouveaux risques pour les insectes pollinisateurs. *Ann Pharm Françaises* 62, 29–35.



- **Christian Bos, Claudine Masson., 1983.** Analyse des effets en particulier de la répulsivité, d'un pyréthrianoïde de synthèse, La deltaméthrine, sur les abeilles. I.N.R.I.-C.N.R.S, Laboratoire de Neurobiologie sensorielle de l'Insect, station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes Sociaux, F9144 Bures sur Yvett.
 - **Clark A.G, Shamaan N.A., 1985.** Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pestic.Biochem. Physiol.*, 22: 249–261.
 - **Claudianos C, Ranson H, Johnson RM, Biswas S, Schuler MA, Berenbaum, Feyereisen R, Oakeshott JG., 2006.** A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Mol. Biol.* 15: 615–636 .
 - **Clément H. 2010.** Une ruche au jardin. Ed. Rustica. Paris. pp.79.20-29p.
 - **Cluzeau S, Paternelle M.C., 2000.** Index phytosanitaire. 36ème édition. ACTA. 73 ; 78-79 ; 117 pp.
 - **Colburn R, Langford G., 1970.** Field evaluation of some mosquito adulticides with observations on toxicity to honeybees and house flies. *Mosquito News.* 30(4).
 - **Connolly CN. 2013.** The risk of insecticides to pollinating insects. *Commun integr Biol* ; 6 :e25074. <https://doi.org/10.41161/cib.25074> PMID: 24265849.
 - **Contardo-Jara V et Wiegand C., 2008.** Biotransformation and antioxidant enzymes of *Lumbriculus variegatus* as biomarkers of contaminated sediment exposure. *Chemosphere* 70, 1879-1888.
 - **Cornuet J.M, Daoudi A, Mosshine E.H, Fresnaye J., 1988.** Étude biométrique de populations d'abeilles Marocaines. *Apidologie*, 19: 355-366.
- D**
- **Darriet F, Guillet P, N'Guessan R, Doannio J.M.C, Koffi A, Konan L.Y, Carnevale P., 1998.** Impact de la résistance d'*Anopheles gambiae* S.S. à la perméthrine et à la deltaméthrine sur l'efficacité des moustiquaires imprégnées. *Médecine Tropicale*, 58, 349-354. Also issued in French, pp. 17 and English, pp. 20 as document WHONBC/99.1002 and WHO/MAL/99.1088. World. Health Organization, Geneva.
 - **Dauterman W. 1976.** Extramicrosomal metabolism of insecticides *Insecticide Biochem and Physiol*: Springer; P.149–176.



- **De Franco. 2009.** Étude des glutathion S-transférases chez les algues brunes *Laminaria digitata* et *Ectocarpus siliculosus* thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 45-46p.
 - **De La Tore F, Ferrari L, Salibian A., 2002.** Freshwater pollution biomarker : reponse of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. *Comp. Biochem, Physiol. C* 131, 271-280.
 - **De Lafontaine Y, Gagné F, Blaise C, Costan G, Gagnon P, Chan H.M., 2000.** Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). *Aquat Toxicol* 50, 51-71.
 - **Decourtye A, Brun F, Gauthier M, Devillers J, Bagnis C, Aupinel P, Fourier J., 2011.** Honeybee tracking with microchips : a new methodology to measure the effects of pesticides *ecotoxicology* 20 : 429-437, doi 10 :1007/s10646-011-0594-4.
 - **Dellali M, Gnassia-Barelli M, Roméo M, Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of bizerta lagoon, *comp. Biochem phys, part C* 130, 227-235.
 - **Depledge W.H, Fossi M.C., 1994.** The role of biomarkers in environmental assessments (2). *Invertebrates. Ecotoxicology* 3, 161-17.
 - **Detroux L. 1996** Les produits phytopharmaceutiques :Leur objectifs et leur impacts sur la qualité de la nourriture, de l'eau et de l'environnement centre de recherche agronomique, Gembloux.
 - **Déo-Gracias Zoclanclounon, Armand Paraiso, Grégoire Paraiso, Franck Akogbéto., 2017.** Toxicité pour l'abeille *Apis Mellifera Adansonii* De Trois Herbicides Utilisés En Agriculture Au Benin, *European scientific journal* novembre 2017edition Vol.13, No.33 ISSN : 1857-7881 (print) e- ISSN 1857-7431.
 - **Diao Q, Yuan K, Liang P, Gao X., 2006.** Tissue distribution and properties of glutathione S-transferases in *Apis ceranacera* Fabricius and *Apis melliferaligustica Spinola*. *J. Apic. Res.* 45, 145-152.
- É**
- **El habib El Azzouzi. 2013.** Processus physico-chimiques d'élimination des pesticides dans l'environnement : cas de l'Imazéthapyr. Thèse de doctorat en chimie physique.



- **Elliott J.E, Bishop C.A, Morrissey C.A., 2011.** Wildlife Ecotoxicology, forensic Approaches. Springer. 463 pp.

F

- **FAO. 2015,** Food and agriculture organization en fr : organisation pour L'alimentation et l'agriculture.
- **Farhang Rasuli, Javad Nazemi Rafie, Amin Sadeghi., 2017.** Acute contact toxicity of six pesticides in honeybees (*Mellifera Meda*) in Iran, *J.APIC.SCI.* VOL.61 NO.1 2017.
- **Ferrari A, Venturino A, Pechén de D'Angelo AM., 2007.** Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88, 134-142
- **Finsterer J, Zarrouk-Mahjoub S., 2018.** Biomarkers for detecting mitochondrial disorders. *J clin Med.* 2018, 7, 16; doi: 10.3390/jcm7020016.
- **Fluri P. 1994.** Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal suisse d'Apiculture.* vol. 91. 19-27p.
- **Fournier D, Bride J.M, Poirie M, Berge J.B, Plapp Jr.F.W., 1992.** Insect glutathione Stransferases:biochemical characteristics of the major forms from housefly susceptible and resistant to insecticides.*Journal of Biological Chemistry,* 167: 1840-1845.
- **Franziska Dickel, Daniel Munch, Gro Vang Amdam, Johanna Mappes, Dalial Freitak., 2018.** Increased survival of honeybees in the laboratory after simultaneous exposure to low doses of pesticides and bacteria. *PLos one* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191256>.
- **Frérés JM, Guillaume JC., 2011.** L'apiculture écologique de A à Z. nouvelle Ed. marco pietteur.pp.816.119-142p.
- **Fulton M H, Key P B., 2001.** Acetylcholinestrase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects, *Environ. Toxicol. Chem.*20, 37-45.

G

- **Gallai N, Salles J-M, Settele J, Vaissiere B.E., 2009.** Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.,* 68: 810-821.



- **Grissa K, Cornuet J.M, Msadda K, Fresney J., 1990.** Etude biométrique des populations d'abeilles tunisiennes. *Apidologie*, 21: 303–310.
- **Grixti J.C., Wong L.T., Cameron S.A., & Favret C., 2009.** Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biol. Conserv.*, **142**:75-84.
- **Gustin Y. 2008.** L'apiculture illustrée. Eds. Rustica. Fler. Paris. pp.223.

H

- **Habig W.H, Pabst M.J, Jakoby W.B., 1974.** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol Chem.*, 249: 7130-7139.
- **Hasibur Rehman, Al Thbiani Aziz, Shalini Saggiu, Zahid Khorshid Abas, Anand Mohan, Abid A, Ansari., 2014.** Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to datamethrin, 62p.
- **Hennebelle. 2010.** L'abeille In Doc Apiculture.
- **Hepburn H.R, Radloff S.E., 1996.** Morphometric and pheromonal analyses of *Apis mellifera* L. along a transect from the Sahara to the Pyrenees. *Apidologie*, 32 (1): 53-58.
- **Hyne R.V, Maher W.A., 2003.** Invertebrate biomarkers: links to toxicosis that predict population decline. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 54: 366–374.

I

- **ITELV. 2004.** Institut technique des élevages, situation de la filière apicole, BABA ALI, Alger, 14p.

J

- **Juilie Aufauvre. 2013.** Impact de la microsporidie *Nosema ceranae* et d'insecticides neurotoxiques sur la sante de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Thèse de doctorat en physiologie et génétique moléculaires, Université BLAISE PASCAL-Clermont ,15p.

K

- **Kerckhove O. 2012.** Espèces ou association d'espèces de poissons en tant que bio-indicateur de l'état de santé des récifs coralliens. Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, 96 p.



- **Kostaropoulos I, Papadopoulos A.I, Metaxakis A, Boukouvala E, Papadopoulou Mourkidou E., 2001.** Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroid in insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 313-319.
- **Krupke C.H, Hunt G.J, Eitzer B.D, Andino G, Given K., 2012.** Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. *PLoS One*, 7(1): e29268. doi:10.1371/journal.pone.0029268.
- **L**
- **Labrot F, Ribera D, Saint-Denis M, Narbonne J F., 1996.** In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination:lipid peroxidation ,acetylcholinesterase ,catalase and glutathione peroxidase activities in three non-mammalian species.biomarkers 1,23-30.
- **Laidlaw H. H. & Page R.E., 1997.** Queen rearing and bee breeding. *WicwasPress, Cheshire, CT*: 224-78.
- **Lagadic L, Caquet T, Amiard J.C., 1997.** Intérêt d'une approche multiparamétrique pour le suivi de la qualité de l'environnement. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie – Aspects fondamentaux*. Masson, 393-402.
- **Lagadic L, Caquet T, Amiard J-C, Ramade F., 1998.** Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Lavoisier, Editions Tec & Doc, Paris, France*, 320p.
- **Landres P, Verner J, Ward Thomas J., 1988.** Ecological uses of vertebrate indicator species: a critique. *Conservation Biology*, vol. 2, no 4, p. 316-328.
- **Le conte Y. 2011.** Mieux connaitre l'abeille. La vie sociale de la colonie. In : Bruneau.E ; Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B. *Le traité Rustica de l'apiculture*. Ed. Rustica. Paris. pp.527. 12-83p.
- **Leaver M.J, Clarke D.J, George S.D., 1992.** Molecular studies of the phase II xenobiotic conjugative enzymes of marine pleuronectid flatfish. *Aqua. Toxicol.*, 22: 265-278.
- **Leita L, Muhlbachova G, Cesco R, Barbattini R, Mondini C., 2004.** Investigation of the use of honeybees and honeybee products to assess heavy metals contamination. *Environ. Monitor Assess*, 43: 1-9.



- **Leng G, Leng A, Kühn, K-H, Lewalter J, Pauluhn J., 1997.** Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica*, 27:1273-1283.
- **Loucif-Ayad Wahida, Nadia Aribi, Noureaddine Soltani., 2008.** Evaluation of secondary effects of some acaricides on *Apis mellifera intermissa* (Hymenoptera, Apidae) : Acétylcholinestérase and Glutathion S-Transférase activités. ISSN 1450-216X Vol.21 No.4.
- **Loucif-Ayad W, Achou M, Legout H, Alburaki M, Garnery L., 2014.** Genetic assessment of Algerian honeybee populations by microsatellite markers. *Apidologie*, DOI: 10.1007/s13592-014-0331-0.

M

- **Mackowiak C. 2009.** Le déclin de l'abeille domestique *Apis mellifera* en France. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 155 p In : *Pollinisation et productions vegetales/ ed. par PESSON, P., LOUVEAUX, J.* Paris : INRA, 1984.- p.565-576.
- **Maja Ivana S, Ckerl, Spela V.B, Helena B.C, Ales Gregorc., 2009.** Residues of pesticides in Honeybee (*Apis mellifera carnica*) Bee Bread and in pollen loads from treated apple orchards, *bull environ contam toxicol* 83; 374-377 doi 10.1007/s00128-009-9762-0.
- **Malmezat T, Breuille D, Capitan P, Mirand P.P, Obled C., 2000.** Glutathione turnover is increased during the acute phase of sepsis in rats. *J. Natr.*, 130: 1239-1246.
- **Mao W, Rupasinghe SG, Johnson RM, Zangerl AR, Schuler MA, Berenbaum MR., 2009.** Quercetin-metabolizing CYP6AS enzymes of the pollinator *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Comp Biochem. Physiol B Biochem.MolBiol* 154(4):427-434.
- **Markert B.A, Breure A.M, Zechmeister H.G., 2003.** Bioindicators and Biomonitors. Principles, concepts and applications. Vienne, Elsevier, 997p.
- **Marques J.C, Salas P, Patricio J, Texeira H, Neito J.M., 2009.** Ecological indicators for coastal and estuarine environmental assessment - A user guide. Southampton, WIT Press, 183 p.



- **Maxwell D.M., 1992.** The specificity of carboxylesterase protection against the toxicity of organophosphorus compounds. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**: 306-312.
 - **Medjouel M. 2008.** la situation actuelle de l'apiculture dans la Wilaya de LAGHOUAT, Thèse d'ingénieur d'Etat en agronomie saharienne (Ouargla), 5, 14, 24p.
 - **Metas E. 2006.** Etude des impacts à court terme de la lutte antivectorielle sur les abeilles dans le cadre de l'épidémie de chikungunya. Etude DIREN-volet Abeilles, 36 p.
 - **Mezhoudi H. 2010.** Résolution du problème d'affectation de fréquence dynamique en utilisant un algorithme basé sur le comportement des abeilles 2010.
 - **Mohamed E.I Badawy, Hoda M. NASR, Entsar I. Rabea., 2015.** Toxicity and biochemical changes in the honey bee *Apis mellifera* exposed to four insecticides under laboratory conditions. INRA, DIB and Springer-Verlag France ; 46:177–193 .
 - **Moritz F, De Miranda J, Fries I, Le Conte Y, Neumann P, Paxton R.J., 2010.** Research strategies to improve honeybee health in Europe. *Apidologie*, **41**: 227-242.
 - **Motoyama N, Dauterman W.C., 1980.** Glutathione S-transferases: their role in the metabolism of organophosphorus insecticides. *Rev. Biochem. Toxicol.*, 2:49-69.
- N**
- **Nabti. 2015.** Impact des Produits Phytosanitaires Utilisés dans les Vergers sur les Abeilles Algérienne et le Miel, thèse de doctorat en biologie animale environnementale université badji mokhtar-Annaba 71p.
 - **Nabti DJ, Achou M, Soltani N., 2015.** DECIS 25 EC toxicity to Algerian honeybees, *Journal of Entomology and Zoology studies* 2015; 3(6): 285-288.
- O**
- **OECD/OCDE. 1998.** Guidelines for the testing of chemicals number 213, honeybees, acute oral toxicity test, OECD. Environ. Health. Safe. Division, Paris.
 - **Oldroyd B.P. 2007.** What's killing American honey bee? *PLoS Biol.*, **5**: 1195-1199.



- **Ollerton J, Winfree R, Tarrant S., 2011.** How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos.*, 120: 321-326.
- **Ollerton J, Erenler H, Edwards M, Crockett R., 2014.** Pollinator declines. Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science* ; 346 :1360-2. <https://doi.org/10.1126/science.1257259> PMID: 25504719.
- **ORSB. 2001.** Observatoire Régional de santé de Bretagne 2001.

P

- **Palmer MJ, Moffat C, Saranzewa N, Harvey J, Wright GA, Connolly CN., 2013.** Cholinergic pesticides cause mushroom body neuronal inactivation in honeybees. *Nat Commun.* 2013 ;4:1634 doi: [10.1038/ncomms2648](https://doi.org/10.1038/ncomms2648).
- **Papadopoulos A.I, Polemitou I, Laifi P, Yiangou A, Tananaki C., 2004.** Glutathione S-transferase in the developmental stages of the insect *Apis mellifera macedonica*. *Comp. Biochem. Physiol., Part C.*, 139: 87-92.
- **Pascal R. 2009.** Les abeilles et la fabrication du miel, Astronome, Europe, 36p.
- **Paterson P. 2006.** L'apiculture revue, Quae, c/o Inra, RD 10, 78026 Versailles cedex, France, 18, 20p.
- **Paterson P.D. 2008.** L'apiculture. Collection Agricultures tropicales en poche, 158 p.
- **Paxton R.J., Klee J., Korpela S. & Fries I. 2007.** *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*, **38**: 558- 565.
- **Peacock P. 2008.** Apiculture. Ed. Marabout. pp.144.
- **Peixoto F, Alves-Fernandes D, Santos D, Fontainhas-Fernandes A., 2006.** Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85, 91-96.
- **Perugini M, Manera M, Grotta L, Abete M.C, Tarasco R, Amorena M., 2011.** Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. *Biol. Trace Elem. Res.*, 140: 170-176.
- **Pettigrew A. 2008.** Protégeons les abeilles des pesticides. Paris : Organisation mondiale de la santé animale. Agrireseau.



- **Pères G, Vandenbulcke F, Guernion M, Hedde M, Beguiristain T, Douay F., 2011.** Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, 54S (2011) S77– S8.
 - **Pham-délégue MH. 1999.** Les abeilles. Ed. Genève. Minerva. 206 p.
 - **Philippe JM. 2007.** Le guide de l'apiculture. Ed. Aix-en-Provence. France. pp. 347.
 - **Pohl F. 2008.** L'élevage des abeilles. Ed. Artémis.95p.
 - **Pokhrel Vivek, Nicholas A. Delisi, Robert G. Danka, Todd W. Walker, James A. Ottea, Kristen B. Healy., 2018.** Effects of truck-mounted, ultra low volume mosquito adulticides on honey bees (*Apis mellifera*) in a suburban field setting, *Plos one*; 13(3): e0193535. doi:10.1371/journal.pone.0193535.
 - **Porrini C, Sabatini A.G, Girotti S, Fini F, Monaco L, Celli G, Bortolotti L, Ghini S., 2003.** The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators, *Bull. Insectology* 56 (1): 147-152.
 - **Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE., 2010a.** Global pollinator declines : trends, impacts and divers, *Trends Ecol Evol* ;25 :345-53. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007> PMID: 20188434.
 - **Potts SG, Roberts SPM, Dean R, Marris G, Brown MA, Jones R., 2010b.** Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *J Apic Res* ;49 :15-22
 - **Prost JP. 2005.** Apiculture : Connaître l'abeille. Conduire le rucher. Ed. J.B. Baillière.7e édition revue et complétée par Le conte Y. pp. 698.
- R**
- **Rader R, Howlett B.G, Cunningham S.A, Westcott D.A, Newstrom-Lloyd L.E, Walker M.K, Teulon D.A.J, Edwards W., 2009.** Alternative Pollinator Taxa are Equally Efficient but not as Effective as the Honeybee in a Mass-flowering Crop, *Journal of Applied Ecology*, **46**: 1080-1087.
 - **Rasolofoarivao H. 2014.** *Apis mellifera unicolor* (Latreille, 1804, Hymenoptera: Apidae) et *Varrroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000, Acari : Varroidae) à Madagascar : diversité génétique, impact et comportement hygiénique.Thèse doctorat en Sciences.pp.144.
 - **Ratnieks F.L.W, Carreck N.L., 2010.** Clarity on honey bee collapse? *Science*, **327**:152153.



- **Ravazzi G. 2007.** Abeille et apiculture. Ed. Vecchi. Paris. pp. 159.12-39p.
- **Rey R. 2012.** La disparition des abeilles (Colony Collapsus Disorder). Etat des lieux, analyse des causes et des conséquences. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Victor Segalen – Bordeaux 2, 115p
- **Riondet J. 2013.** Le rucher durable. Ed. ulmer. Paris. pp. 271.
- **Ruttner F. 1975.** Les races d'abeilles de l'Afrique. 25^{ème} congrès internati. Apicult. Apimondia, Grenoble, pp. 347 – 367.
- **Ruttner F. 1987.** Histoire de la ruche. Rev.franç.apic.,(206),paris pp 564-568.

S

- **Sayeed I, Parvez S, Pandey S, Bin-Hafeez B, Haque R, Raisuddin S., 2003.** Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, Channa
- **Seeley TD. 1983.** Division of labor between scouts and recruits in honey bee foraging. Behavioral ecology and sociobiology. vol. 12. 253-259p.
- **Segeren P, Mulder V, Beetsma J, Sommeijer R., 2004.** L'apiculture dans les zones tropicales. Sixième édition. 93p.
- **Sifi K, Chouahda S, Soltani N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax tranculus* dans le golfe d'Annaba (ALGERIE) 63 :11-18.
- **Stokstad E. 2007.** The case of the empty hives. *Science.*, **316**: 970–972.
- **Stone D, Jepson P, Laskowski R., 2002.** Trends in detoxification enzymes and heavy metal accumulation in ground beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting a gradient of pollution. *Comp. Biochem. Physiol.*, **132**: 105-112.
- **Straub P. 2007.** (in Science.Direct.com). Faune et Flore. L'abeille sentinelle écologique.

T

- **Terriere LC. 1984.** Induction of detoxication enzymes in insects. *Annul Rev Entomol*; 29:71–88.
- **Thompson HM. 2010.** Risk assessment for honey bees and pesticides--recent developments and “new issues.” *Pest Manag Sci* 66, 1157–1162.
- **Tirado R, Simon G, Johnston P., 2013.** Le Déclin Des Abeilles – Analyse des facteurs qui mettent en péril les pollinisateurs et l'agriculture en Europe.



Laboratoires de recherche de greenpeace. Http: //www. Greenpeace. Org/France/Page files/266577/ Le declin des abeilles- 201 30425

V

- **Van der Oost H, Beyer J, Vermeulen P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13, 57-149.
- **Vandimian. 2014.** La biosurveillance de l'environnement.9. Congrès International de Métrologie, Bordeaux, France. pp. 655-658.
- **Vijayan Magesh, Zhen Zhu, Tianren Tang, Shaoe Chen, Li Li, Lidong Wang, Kalidindi Krishna Varma, Yifan Wu., 2017.** Toxicity of Neonicotinoids to Honey Bees and Detoxification Mechanism in Honey Bee *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)* e-ISSN: 2319-2402, p- ISSN: 2319-2399. Volume 11, Issue 4 Ver. I, PP 102-110 www.iosrjournals.org
- **Villarini M, Moretti M, Pasquini R, Scassellati-Sforzolini G, Fatigoni C, Silvano Monarca M.M, Rodriguez A.V., 1998.** In vitro genotoxic effects of the insecticide deltamethrin in human peripheral blood leukocytes: DNA damage ('comet assay') in relation to the induction of sister chromatid exchanges and micronuclei. *Toxicology*, 130,129–139.

W

- **Wallowork-Barber A. K, Ferenbaugh R. W, Gladney E. S., 1982.** The use of honey bees as monitors of environmental pollution. *American Bee Journal*, 122 (11): 770- 772.
- **Wendling S. 2012.** *Varroa destructor* (ANDERSON et TRUEMAN, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de Médecine. Créteil. pp. 190.
- **Whitehorn P.R, O'Connor S, Wackers F.L, Goulson D., 2012.** Neonicotinoid pesticide reduces Bumble Bee colony growth and queen production. *Science*, **336**: 351-352.



- **Who I.P.C.S. 1993.** Environmental health criteria: biomarkers and risk assessment: Concepts and principals. Ipcs, world health organization, Geneva., PP:155.
- **Winston ML. 1987.** The biology of the honey bee Harvard University Press, Cambridge USA.
- **Winston ML. 1993.** La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Ed. Frison Roche. Paris. pp.276.
- **Worthing C.R. 1979.** The pesticide manual. A world compendium. 6th edition. British crop Protection Council. 119 ; 137 ; 432.

X

- **Xiao N, Jing B, Ge F, Liu X., 2006.** The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions. *Chemosphere* 62, 1366-1373.

Y

- **Yadav R.S, Sampath R.R, Sharma V.P., 2001.** Deltamethrin treated bednets for control of malaria transmitted by *Anopheles culicifacies* (Diptera: Culicidae) in India. *J. Med. Entomol.*, 38, 613–622.
- **Yu Cheng Zhu, Jianxiu Yao, John Adamczyk, Randall Luttrell., 2017.** Feeding toxicity and impact of imidacloprid formulation and mixtures with six representative pesticides at residue concentrations on honey bee physiology (*Apis mellifera*). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178421>
- **Yunchuan D, Hawkes N, Meredith J, Eggleston P, Hemingway J, Ranson H., 2005.** Characterization of the promoters of Epsilon glutathione transferases in the mosquito *Anopheles gambiae* and their response to oxidative stress. *Biochem J*; 387(3):879–888.

Z

- **Zinedine B, Habib G., 1997.** 35th Inter. Apic. Cong. Of Apimondia, Antwerp, 1997, 549.



ANNEXE

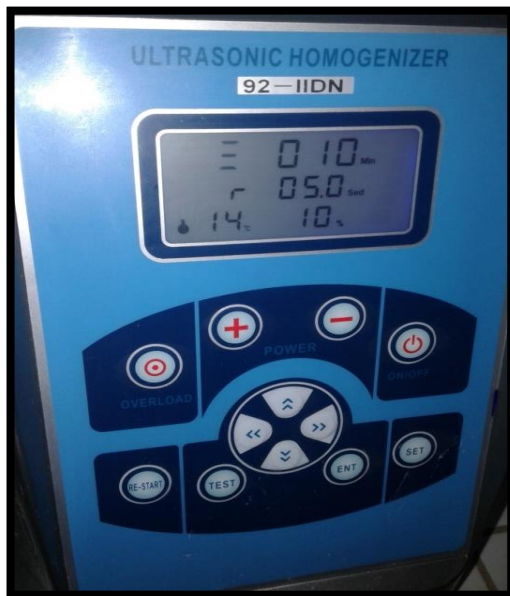


Photo 01 : Broyeur à ultrasons

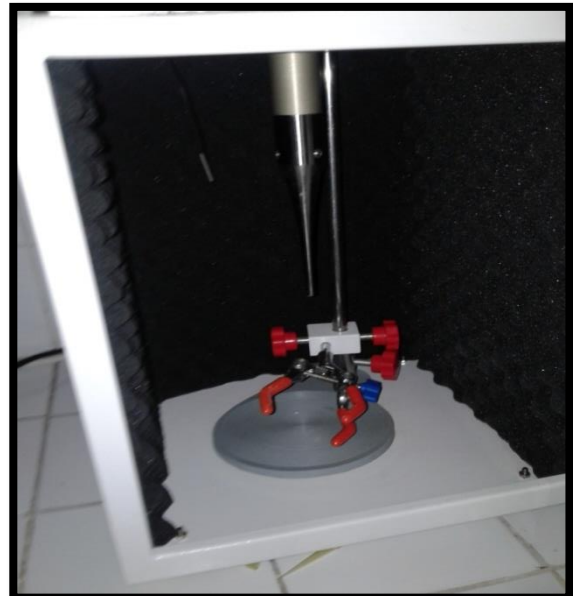


Photo 02: Broyeur à ultrasons
(l'intérieur)



Photo 03: Spectrophotomètre



Photo 04: Centrifugeuse à
froid

ANNEXE



Annexe B : analyse de variance à 2 critères

Tableau 01 : Etude comparative par l'ANOVA 2 analyse de variance à deux critères de classification (Traitement ; Temps).

GST (Glutathion S Transférase)	Traitement (une DL50 du DECIS EC 25(Déltamethrin matière active))	Temps d'exposition 24h; 48h; 72h; 96h
3,7910	1	1 1=24h
3,9020	1	1
2,6090	1	1
5,0038	2	1
4,4158	2	1
6,2260	2	1
1,2578	1	2 2=48h
2,6351	1	2
1,8620	1	2
4,2298	2	2
2,7280	2	2
4,0290	2	2
4,2891	1	3 3=72h
4,1130	1	3
2,3960	1	3
5,0400	2	3
4,2930	2	3
3,4630	2	3
2,1520	1	4 4=96h
1,4380	1	4
2,8360	1	4
4,1550	2	4
4,3220	2	4
4,1020	2	4

ANNEXE

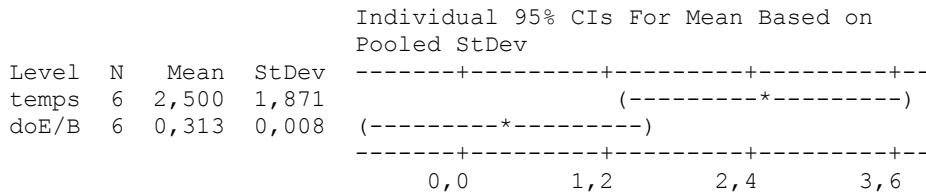


Annexe C : Analyse de variance à 1 critère

One-way ANOVA: temps; DO E/B Après 48h de l'exposition du DECIS EC 25 (R1)

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	14,35	14,35	8,20	0,017
Error	10	17,50	1,75		
Total	11	31,85			

S = 1,323 R-Sq = 45,05% R-Sq(adj) = 39,55%

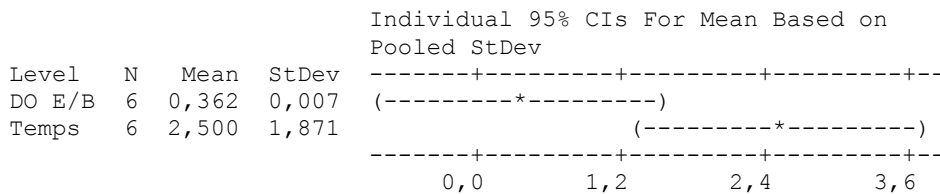


Pooled StDev = 1,323

One-way ANOVA: DO E/B; Temps Après 48h de l'exposition du DECIS EC 25 (R2)

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	13,71	13,71	7,83	0,019
Error	10	17,50	1,75		
Total	11	31,21			

S = 1,323 R-Sq = 43,93% R-Sq(adj) = 38,32%

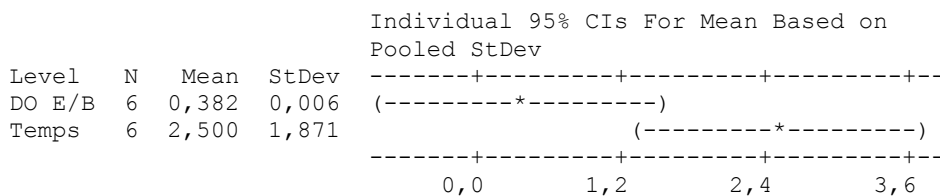


Pooled StDev = 1,323

One-way ANOVA: DO E/B; Temps Après 48h de l'exposition du DECI EC 25 (R3)

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	13,45	13,45	7,69	0,020
Error	10	17,50	1,75		
Total	11	30,95			

S = 1,323 R-Sq = 43,46% R-Sq(adj) = 37,81%



Pooled StDev = 1,323

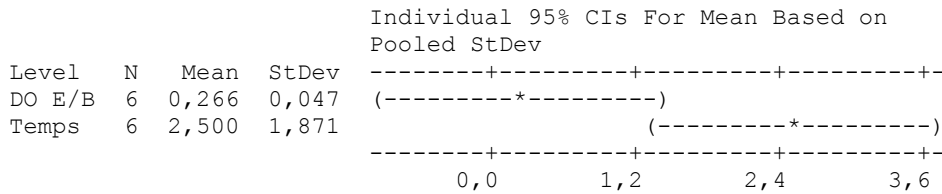
ANNEXE



One-way ANOVA: DO E/B; Temps Témoin R1

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	14,97	14,97	8,55	0,015
Error	10	17,51	1,75		
Total	11	32,48			

S = 1,323 R-Sq = 46,09% R-Sq(adj) = 40,70%

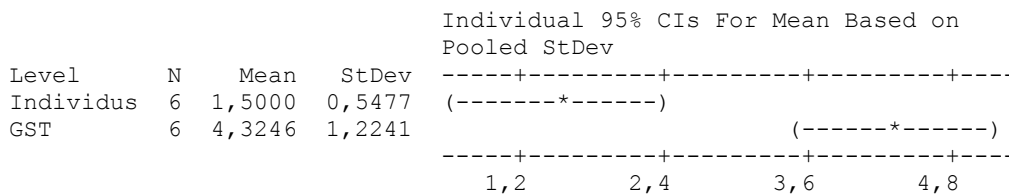


Pooled StDev = 1,323

One-way ANOVA: Individus; GST 24h

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	23,935	23,935	26,62	0,000
Error	10	8,992	0,899		
Total	11	32,927			

S = 0,9482 R-Sq = 72,69% R-Sq(adj) = 69,96%

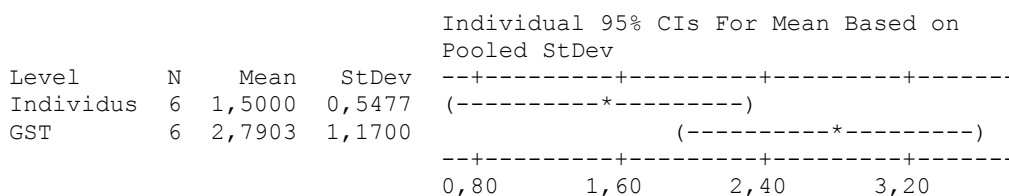


Pooled StDev = 0,9482

One-way ANOVA: Individus; GST 48h

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	4,994	4,994	5,99	0,034
Error	10	8,345	0,834		
Total	11	13,339			

S = 0,9135 R-Sq = 37,44% R-Sq(adj) = 31,19%



Pooled StDev = 0,9135

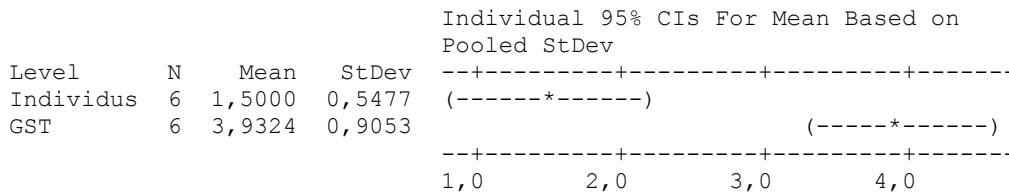
ANNEXE



One-way ANOVA: Individus; GST 72h

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	17,749	17,749	31,71	0,000
Error	10	5,598	0,560		
Total	11	23,347			

S = 0,7482 R-Sq = 76,02% R-Sq(adj) = 73,63%

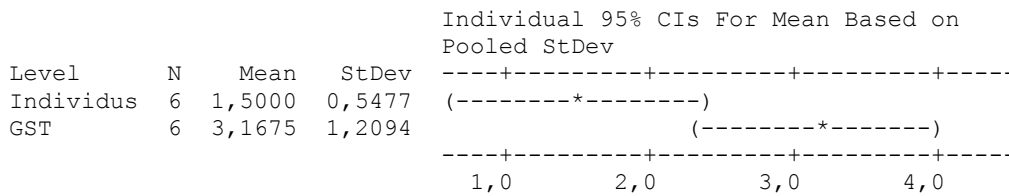


Pooled StDev = 0,7482

One-way ANOVA: Individus; GST 96h

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	1	8,342	8,342	9,46	0,012
Error	10	8,814	0,881		
Total	11	17,155			

S = 0,9388 R-Sq = 48,62% R-Sq(adj) = 43,49%



Pooled StDev = 0,9388