الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالى والبحث العلمى

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة امحمد بوقرة بومرداس

Université M'Hamed Bougera de Boumerdes Faculté des Sciences Département d'agronomie



Memoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Sciences Agronomiques Spécialité : Phytopharmacie et protection des végétaux

Thème

Toxicité aiguë de l'huile essenssielle (Lavandula stoechas) sur un bioindicateur l'abeille domestique (Apis mellifera intermissa)

Présenté par:

Mlle AMMARI Inès Meriem

Mlle AMAOUCHE Imene

Devant le jury:

DR. HENNEB Mina Président UMBB
PR. BISSAAD Fatma Examinatrice UMBB
PR. CHAHBAR Nora Promotrice UMBB
Mlle FELOUSSI Imene Co-promotrice UMBB

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements:

Aucune œuvre humaine ne peut se réaliser sans la contribution d'ALLAH et d'autrui ; ce mémoire est les résultats d'un effort constant, cet effort n'aurait pu aboutir San la contribution d'un nombre de personnes. Ainsi se présente l'occasion de les remercier.

Au terme de ce modeste travail, je tiens tout d'abord à remercier profondément mon promoteur Mme **CHAHBAR NORA**, pour m'avoir permis de réaliser ce mémoire et le mener à bien grâce à ses conseils, ses recommandations et surtout sa disponibilité.

J'adresse également mes sincères remerciements à Mr AJLANE NOUREDDINE, chef de département de sciences agronomique à l'université de Mhammed Bougara Boumerdes.

Nos remerciements sont adressés:

A Mme **HENNEB MINA**, de présider notre jury. Hommages respectueux.

A Mme **BISSAD FATMA**, notre cher enseignante d'avoir accepté de faire partie de notre jury et d'examiner notre travail.

Je ne peux oublier Mlle **FELOUSI IMENE**, notre cher Co-promotrice, pour son aide précieuse dans la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier également nos chers collègues durant tout le cursus universitaire mais aussi à la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Dédicaces

Je dédie ce travail A nos chers parents A nos frères et sœurs

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré

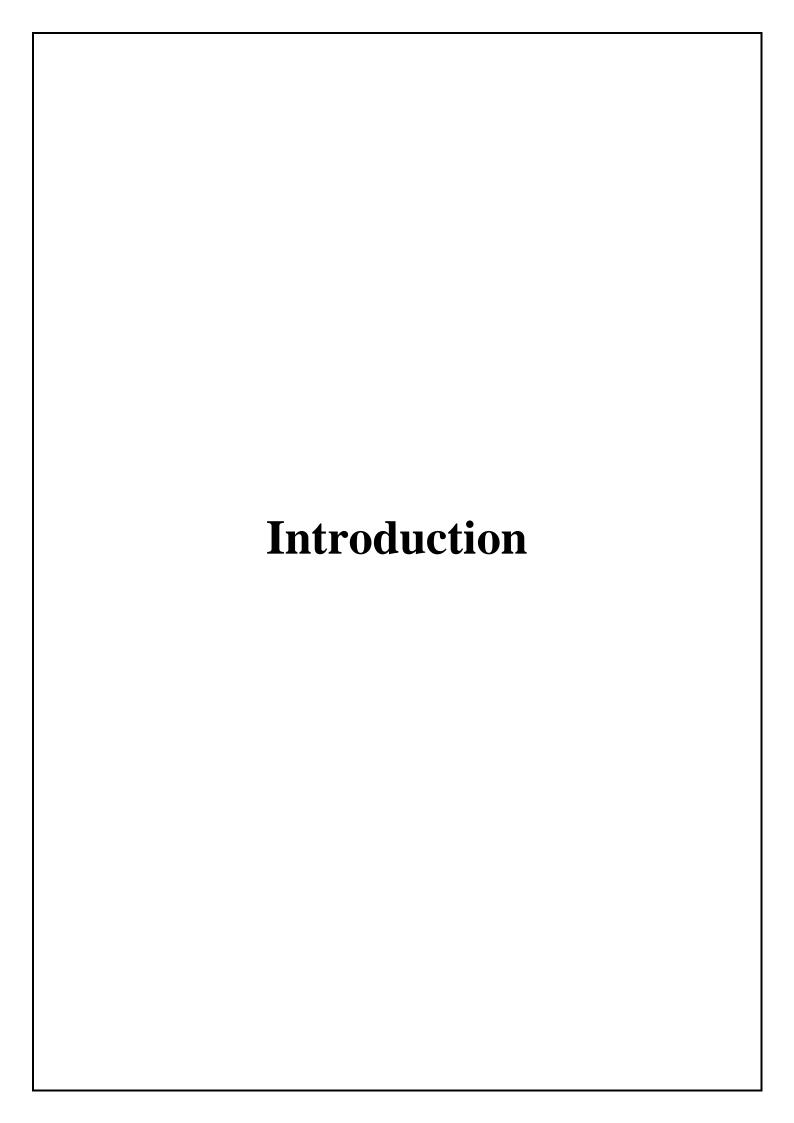
D'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. A nous-même moi et mon cher binôme

A tous nos amis proches et nos respectables familles Nous escomptons sur le fait qu'ils trouveront toutes nos Sincères reconnaissances

Table des matières

Introduction	1
I.1. La présentation de l'abeille Apis mellifera L	3
1.2. Selon (Ruttener, 1988 et Ravazzi, 2007) la classification de l'abeille est	3
1.2. Les différentes castes de la ruche	5
1.2.1. La reine	6
1.2.2. Les ouvrières	6
1.2.3. Les faux-bourdons	7
1.3. La Biologie de l'abeille	8
1.4. Les différentes étapes de développement d'une abeille	9
1.5. L'exposition des abeilles domestiques aux pesticides	12
1.5.1. L'abeille mellifère : un bio-indicateur	12
1.6. Les abeilles domestiques locales exposées à une diversité de pesticides	13
I.2. Toxicologie de l'abeille	15
2.1. Évaluation de la toxicité	15
2.2. Les voies de contaminations	15
2.3. Bio-pesticides	16
2.3.1. Généralité	16
2.3.2. Les bio-pesticides d'origine végétale	16
2.4. Effets insecticides des huiles essentielles sur les abeilles	16
2.5. Méthode d'évaluation de la toxicité des bio-pesticides chez les abeilles	17
2.5.1. La toxicité aigüe	17
2.5.2. La DL50	19
Introduction	21
I. Matériel	21
1.1. Matériel biologique	21
I .1.1. Les abeilles	21
I.2.2. Matériel végétal	22
2. Matériel non biologique	22
2.1. Matériel du laboratoire	22
2.2. Cagette de contention	22
2. 3. Méthodes expérimentales	22
2.3.1. Méthode de séchage	22

2.3.2. Extraction des huiles essentiales	22
3. Etude toxicologique	23
3.1. Préparation et conservation des abeilles	23
3.2.1. Prélèvement des abeilles	23
3.2.2. Modalité de l'anesthésie	24
3.2.3. Conservation des abeilles	24
3.3. Définition d'un essai	24
3.4. Mode d'administration	25
3.4.1. Toxicité orale	25
4.1. Préparation des solutions de produit	25
4.1.1. Solutions du produit à tester	25
5. Etude statistique	27
5.1. Contrôle de la mortalité	27
5.1.1. La mortalité corrigée	27
5.2. Détermination de la DL50	28
5.3. Analyse statistique	28
1. Résultats	30
1.1 Rendement de l'huile essentielle de la plante L. stoechas	30
1.2. Les symptômes induits par la toxicité aiguë de l'huile essentielle de lavande	30
1.3. Toxicité aigüe chez Apis mellifera intermissa	31
1.3.1. Toxicité aigüe par contact	31
1.4. L'analyse de la variance (ANOVA à un seul facteur)	38
1.4.1. Toxicité aiguë chez Apis mellifera intermissa	38
Discussion générale :	46
Conclusion générale	50



Introduction

Introduction

L'abeille a une importance économique et environnementale. En agronomie, la pollinisation assurée par les abeilles augmente le rendement qualitatif et quantitatif de nombreuses plantes cultivées (**Free, 1970**). En apiculture, on commercialise les produits de la ruche: le miel, la cire et la gelée royale principalement. Elle joue aussi un rôle sur le plan environnemental en assurant la pérennité de nombreuses espèces végétales sauvages (**Rafalimanana, 2003**).

Elle permet le maintien et l'équilibre de notre écosystème grâce à sa particularité de pollinisation ce qui résulte des semences hybride et la préservation des espèces végétale. En effet l'incidence de la pollinisation par les insectes est difficile à évaluer toutefois, elle représenterait 80% environ des végétaux (Haubruge 2006).

Depuis une dizaine d'années, les apiculteurs observent des troubles graves au sein de leurs colonies et mettent en avant la responsabilité de certains insecticides utilisés en protection des végétaux (Bourg, 2006). Ce même phénomène a été observé en Algérie, avec une aggravation des phénomènes d'intoxication chez les abeilles. Ceci peut être dû à des altérations du système nerveux des abeilles parce que 90% des insecticides utilisées sur le terrain ont des propriétés neurotoxiques (Moussaoui, 2008).

Par les problèmes que font les pesticides les chercheurs ont optée pour une nouvelle, alternative par l'utilisation de biopesticide à base d'extraits végétaux et des huiles essentielles qui ne nuisent pas aux abeilles.

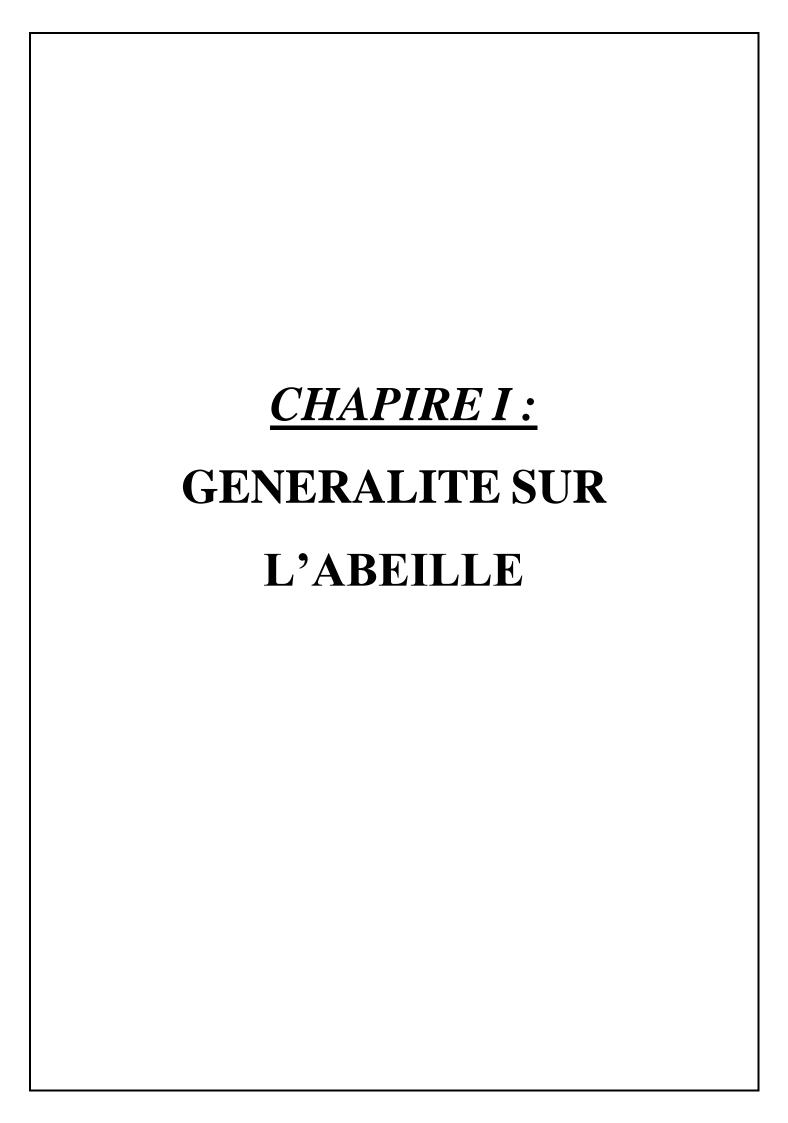
Cette problématique nous amène à faire une étude ayant pour objectif la détermination de la sensibilité de l'abeille domestique *Apis mellifera* vis-à-vis des huiles essentielles, en testant la toxicité aiguë qui nous donnera d'avantage des réponses.

Pour atteindre notre objectif nous avons passez par plusieurs étapes.

Avant de présenter nos résultats, nous réaliserons une analyse bibliographique sur l'abeille Apis mellifera L. ainsi que les effets des huiles essentielles testées.

Dans un deuxième temps, nous présenterons la méthodologie employée dans le cadre de notre étude, les types de prélèvements effectués et les méthodes d'analyses utilisées. Les données recensées par cette étude, ont été traités par un outil des statistiques descriptives : l'analyse de la variance, et ce, afin de vérifier la significativité des différents variables étudiées (mortalité observée, doses).

En dernier lieu, nous avons expliqué et interprété les résultats obtenus, avant de conclure.



CHAPIRE I: GENERALITE SUR L'ABEILLE

I.1. La présentation de l'abeille Apis mellifera L.

Les abeilles appartiennent à l'ordre des hyménoptères et à la superfamille des Apoideae. Cette superfamille contient, en plus des abeilles, les guêpes dites apoïdes (Debevec et al., 2012; Branstetter et *al.*, 2017). La majorité des abeilles sont solitaires. D'autres espèces comme l'abeille domestique *Apis mellifera* de la sous-famille des Apinae sont sociales.

Apis mellifera Linné est l'abeille occidentale qui peuple l'Europe, l'Afrique et l'Asie occidentale et depuis la colonisation, l'Amérique et l'Océanie. C'est l'abeille la plus utilisée en apiculture (suchail, 2001). Les abeilles domestiques réalisent la majeure partie de la pollinisation de près de 90% des plantes à fleurs dans le monde (Kremen *et al.*, 2007 ; Ollerton, 2017).

1.2. Selon (Ruttener, 1988 et Ravazzi, 2007) la classification de l'abeille est comme suit

Règne: Animalia

Embranchement: Arthropoda

Classe: Insecta

Ordre: Hyménoptera Sous-ordre: Apocrita

Famille: Apidea

Sous famille: Apinae

Tribus: Apinés

Genre: Apis

Espèce: Apis mellifera L.

Sachant que les races algériennes étudiées sont:

• Apis mellifera intermissa

« Abeille tellienne » ou « abeille noire du tell » dont l'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien (Haddad et *al.*, 2015) (Figure 01).

L'origine de cette abeille tellienne est la Libye, la Tunisie, l'Algérie et le Maroc, avec une prédominance dans les régions Algérienne (Buttel-reepen, 1906), où elle présente sous la forme de plusieurs variétés adaptées aux divers biotopes (Abdelguerfi et *al.*, 2003). Elle est en position

intermédiaire entre les abeilles tropicales africaines et les races européennes (Fayet, 2013), très agressive, très nerveuse, très essaimeuse, mais aussi très féconde et très bonne récolteuse de pollen et de propolis (Ruttner, 1975). Du point de vue morphologique elle est caractérisée par sa grande taille, avec une pigmentation foncée, de nombreux éclaircissement sur les tergites abdominaux et le scutellum, une longueur moyenne de la langue (6.5mm), et un abdomen large et couvert d'une pilosité superficielle courte et rare (**Chauvin, 1968**).



Figure 01: Apis mellifera intermissa (Buttel-Reepen, 1906)

• Apis mellifera sahariensis

L'abeille saharienne "Apis mellifera sahariensis" (figure 02) est une race qui peuple les ruchers des zones sahariennes. Elle se retrouve au Sud de Maroc et sur l'ensemble du Sud-ouest Algérien, plus particulièrement dans les Monts des Ksour jusqu'à Ain Sefra, Mougrar, Sfissifa Bechar, Djebel Antar, Djebel Bouarid, Djebel Grouz, Moughel, Daria l'Hamar et Beni-Ounif (Haccour, 1997).

Cette abeille a été décrite en 1924 par Baldensperge, elle se caractérise par sa douceur, sa prolificité et sa précocité. Elle est de couleur claire, plutôt tannée que jaune, avec des ailes courtes mais relativement large, un abdomen plus fin et un index cubital plus grand. Cette morphologie expliquerait la puissance et l'intensité que l'on prête à cette abeille et faisant d'elle une excellente butineuse (**Ruttner**, 1988).



Figure 02: Apis mellifera sahariensis (Original)

1.2. Les différentes castes de la ruche

La colonie d'abeilles est souvent considérée comme un super-organisme par analogie avec des organismes supérieurs formés de plusieurs cellules individuelles. La colonie est composée de plusieurs dizaines de milliers d'individus groupés en trois castes différentes : la reine, les ouvrières et les faux-bourdons (figure03), Comme dans chaque organisme complexe, chaque individu a une tâche bien particulière et la vie de ce super-organisme est dépendante de sa présence à l'intérieur de la colonie (Almasri, 2020).

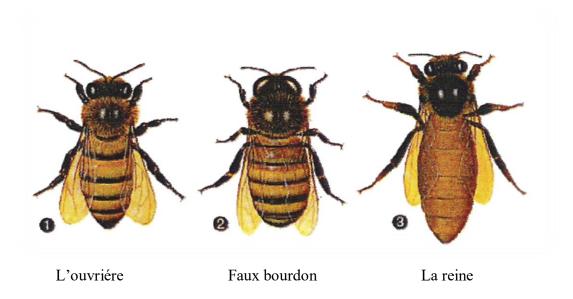


Figure 03 : Les différentes castes d'une colonie (Pham-Delègue, 1999)

1.2.1. La reine

La reine est la seule femelle fertile de la colonie. Elle vit en moyenne de 1 à 2 ans (Page et Peng, 2001), cependant une durée maximale de 8 ans a été rapportée par une étude faite par Bozina (1961). Elle est donc la mère de tous les individus de la colonie (Paterson, 2006). Elle se développe dans une cellule spéciale, dite royale, édifiée par les ouvrière. La cellule royale est en forme de gland allongée, ouverte vers le bas (Cécile, 1972). Plus longues que les ouvrières, elle s'en distingue aussi par ses pattes jaunes et longues et parfois aussi par une teinte différente, plus claire, de ses téguments (Zayan, 2001). Le sperme est stocké dans une sphère appelée spermathèque, il sera utilisé pour fertiliser les œufs durant toute sa vie (Woyke, 1960). La reine commence à pondre 2 à 3 jours après son vol nuptial (Winston, 1987). Elle pond de 1500 à 2000 œufs par jour soit 200 000 œufs par an (Winston, 1991).

La reine accumule dans sa spermathèque un stock de spermatozoïdes généralement suffisant pour féconder les œufs pour environ trois années (Ruttner, 1956). Elle est capable de contrôler le sexe de sa descendance en fermant ou en ouvrant l'entrée de la spermathèque lors du passage de l'ovule, elle reconnaît les cellules de mâles d'après leur taille qu'elle évalue à l'aide de ses pattes antérieures. C'est cette perception qui conditionne le sexe de l'œuf. Un œuf fécondé donnera naissance à une ouvrière alors qu'un œuf non fécondé donnera un mâle (suchail, 2001).



Figure 04: La reine (Archambault, 2009)

1.2.2. Les ouvrières

Les ouvrières constituent la caste non reproductrice. Ce sont les individus les plus nombreux dans la colonie et ont des organes reproducteurs atrophiés grâce à l'action de la phéromone royale (Hoover et *al.*, 2003). Ainsi, les ouvrières accomplissent toutes les tâches de la ruche hormis la reproduction, l'ouvrière accomplit différentes tâches (figure 05) :

- Dès le 1er jour, **nettoyeuse**, elle entretient les alvéoles.
- Du 2ème au 11ème jour, **nourricière**, elle gave de gelée royale les larves de reine.

- Du 12ème au 13ème jour, **magasinière-ventileuse**, elle stocke le pollen et le nectar, elle bat des ailes pour maintenir une température constante de 30 à 35°C.
- Du 14ème au 17ème jour, **architecte**, elle utilise ses glandes cirières pour construire les alvéoles.
- Du 18ème au 21ème jour, gardienne, elle interdit aux intrus de pénétrer dans la ruche.
- Du 22ème jour jusqu'à sa mort, **butineuse**, elle récolte le nectar et le pollen des fleurs ainsi que de la propolis (**Villeneuse et Desir, 1965**).

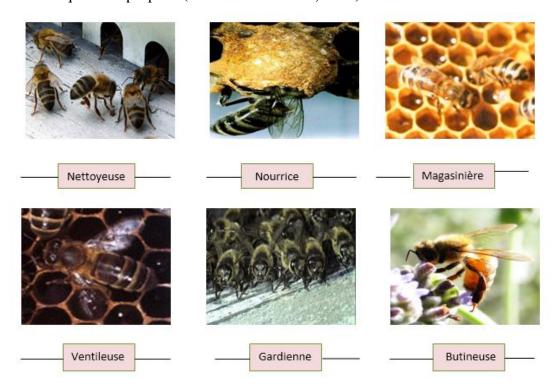


Figure 05 : Les différentes tâches d'une ouvrière (Gérard, 2009)

1.2.3. Les faux-bourdons

Dans une colonie, ne se trouvent que quelques centaines de faux bourdons. Ils n'assurent aucune tâche mis à part leur rôle dans la reproduction. Ils se nourrissent seuls exclusivement du miel stocké dans les rayons. Ils ne sont présents dans la colonie que durant la période où

les ressources alimentaires sont importantes. A la fin de l'été, ils sont tués ou chassés de la colonie.



Figure 06: Le faux bourdon (Archambault, 2009)

1.3. La Biologie de l'abeille

L'abeille présente une morphologie semblable à celle des autres insectes, se composant de trois parties distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (Figure7). La tête est dotée de trois yeux simples appelés ocelles, ainsi que d'une paire d'yeux composés à facettes. Elle possède également des antennes portant les organes sensoriels et des pièces buccales de type lécheurs-suceurs, permettant à l'abeille d'absorber le nectar des fleurs, le thorax de l'abeille porte trois paires de pattes et deux paires d'ailes membraneuses, avec les ailes antérieures étant significativement plus grandes que les ailes postérieures, les pattes postérieures sont élargies et couvertes de poils raides, formant une corbeille à pollen qui permet aux ouvrières de transporter le pollen collecté. L'abdomen contient le tube digestif de l'abeille, tandis qu'une glande à venin est reliée à un dard appelé aiguillon, qui est utilisé exclusivement comme arme défensive (Fronty, 1998).

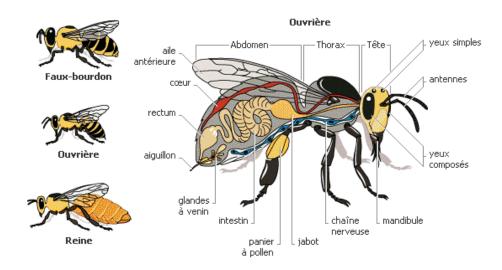


Figure 07 : Corps de l'ouvrière (Encarta, 2009)

1.4. Les différentes étapes de développement d'une abeille

Les abeilles sont des insectes holométaboles, c'est à dire qu'ils sont à métamorphose complète. En effet, elles sont complètement différentes à l'état larvaire et à l'état adulte. A une température moyenne de 34°C, elle passe par les stades de l'œuf, de la larve, de la nymphe et de l'adulte ((Prost et al., 2005) (figure12). Les larves éclosent trois jours après la ponte des oeufs. Toutes les larves femelles peuvent se développer en reines ou en ouvrières. Ces larves sont toutes nourries avec de la gelée royale par les ouvrières pendant trois jours. Ensuite, c'est la nature de leur nourriture qui va déterminer leur appartenance à une caste donnée. Les larves nourries exclusivement avec de la gelée royale se développeront en reines, tandis que les autres larves recevant une gelée contenant du pollen et du miel deviendront des ouvrières (Winston, 1987). Après l'éclosion des œufs, les cellules sont operculées. Les nymphes de reines, d'ouvrières et de mâles achèvent leur développement en 16, 21 et 24 jours respectivement après la ponte, selon une étude menée par Jay (1963).

1-Œuf: La reine dépose dans chaque alvéole un œuf, minuscule virgule blanchâtre. 3 jours après, une larve en sort.

Figure 08: L'œuf d'une ouvrière (CCSTI et al., 2008)



2- Larve:

Pendant 3jours, les nourrices l'aliment en permanence avec de la gelée royale. Puis la larve reçoit un mélange de pollen, de miel et d'eau. Apres 6jours, les ouvrières ferment l'alvéole avec une capsule de cire

Figure 09 : La larve d'une ouvrière (CCSTI et al., 2008)



Figure 10 : La nymphe d'une ouvrière (CCSTI et al., 2008)



Figure 11: L'ouvrière adulte (CCSTI et al., 2008)

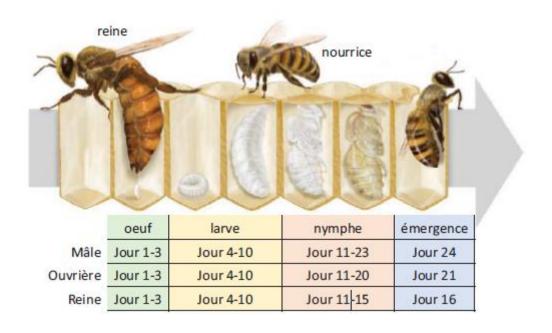


Figure 12 : Développement des trois castes d'Apis mellifera (D'apres Encyclopadia Britannica (www.britannica.com/animal/honeybee).

1.5. L'exposition des abeilles domestiques aux pesticides

1.5.1. L'abeille mellifère : un bio-indicateur

Le but de la bio-indication est de détecter la présence de polluants dans l'environnement en utilisant des choses vivantes comme les plantes, les animaux et les insectes. Ces créatures, parfois appelées bioindicateurs, permettent de surveiller naturellement l'intensité, les conséquences et l'étendue de la pollution. La compréhension des risques d'empoisonnement des bioindicateurs permet d'estimer les risques d'intoxication pour différents organismes, y compris les êtres humains. Les lichens et les mousses sont universellement reconnus comme des indicateurs végétaux fiables. Par ailleurs, les abeilles domestiques jouent un rôle remarquable en tant qu'indicateurs animaliers dans la détection de la pollution (Chagnon, 2009).

Apis mellifera, également connue sous le nom d'abeille domestique, présente plusieurs caractéristiques éthologiques et morphologiques qui en font un détecteur écologique fiable et sans reproche. Grâce à ses activités de butinage, elle prélève des échantillons dans divers environnements tels que le sol, la végétation, l'eau et l'air, fournissant ainsi de multiples indicateurs pour chaque saison. De plus, la ruche recueille une variété de produits tels que le

nectar, le pollen, le miellat, la propolis et l'eau, qui sont stockés dans des cellules selon des critères variés. Cela offre donc une gamme de produits différents pour les analyses (Porrini et al., 2003).

1.6. Les abeilles domestiques locales exposées à une diversité de pesticides

Les pesticides sont des substances chimiques naturelles ou synthétiques, utilisées le plus souvent dans l'agriculture pour lutter contre les insectes ravageurs, les mauvaises herbes et les agents pathogènes qui conduisent ensemble à une perte annuelle de 31% de la production agricole à l'échelle mondiale (Almasri, 2020). Près de 50% des pesticides utilisés en agriculture sont des herbicides, 29,5% sont des insecticides et 17,5% sont des fongicides (Arnab De et al., 2014). Actuellement, les principales substances incriminées comme étant très toxiques pour les abeilles sont les insecticides, et notamment les trois grandes familles pyréthrinoïdes, phénylpyrazoles et néonicotinoïdes, qui sont efficaces à faibles doses contre les insectes dits nuisibles (pucerons, aleurodes, cicadelles) et possèdent des propriétés de diffusion à travers les végétaux (Casida and Quistad, 1998; Regnault-Roger et al., 2005). La plupart des insecticides utilisés sont des neurotoxiques, agissant sur le système nerveux des organismes cibles, mais chaque famille chimique agit sur différents récepteurs spécifiques. A titre d'exemple, les néonicotinoïdes provoquent une hyperstimulation du système nerveux central des insectes en se liant sur les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine (nAChR) (Schmuck et al., 2003; Jeschke et al., 2011; Fairbrother et al., 2014). Ce mode d'action les rend particulièrement efficaces pour le contrôle des insectes nuisibles notamment sur les cultures de coton, maïs, betterave ou colza (Elbert et al., 2008). Hormis les insecticides ciblant le système nerveux, d'autres sont des régulateurs de croissance, tels que les inhibiteurs de synthèse de chitine, ou des molécules agissant sur le système respiratoire. Puisqu'ils ont comme cible les insectes, la plupart de ces insecticides présentent un risque élevé pour les abeilles (Desneux et al., 2007 ; Belzunces et al., 2012; Kiljanek et al., 2016; Alkassab and Kirchner, 2017; Botías and Sánchez-Bayo, 2018; Sponsler et al., 2019). En plus de pouvoir tuer directement les abeilles, ils peuvent aussi affecter leur résistance aux parasites (thiaclopride, imidaclopride et clothianidine; Brandt et al., 2016), leur efficacité métabolique (clothianidine; Cook, 2019), et de butinage (imidaclopride ; Colin et al., 2019) ou encore leur capacité à revenir à la ruche (Henry et al., 2012).

Outre les insecticides, d'autres pesticides tels que les herbicides et fongicides, même s'ils ne sont pas destinés à tuer les insectes, peuvent avoir des effets néfastes sur les abeilles (Cullen et al., 2019a; Rondeau and Raine, 2022). Les herbicides, bien qu'ils ciblent des voies physiologiques spécifiques des plantes, peuvent interférer avec les processus métaboliques et reproductifs des abeilles. A titre d'exemple, le glyphosate cible une voie métabolique présente dans les plantes mais celle-ci est également présente dans certaines bactéries du microbiome intestinal des abeilles mellifères, pouvant ainsi le perturber (Motta et al., 2018). D'autres effets des herbicides sur les abeilles ont été constatés (pour revue Sánchez-Bayo et al., 2016 ;Cullen et al., 2019).

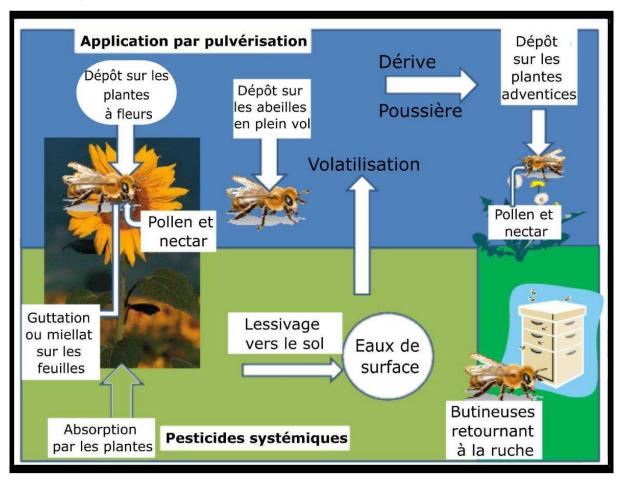


Figure 13 : Les différentes voies d'exposition des abeilles aux pesticides. Modifié d'après EFSA (2012).

I.2. Toxicologie de l'abeille

L'abeille court souvent le risque d'être victime des « effets non intentionnels » issus de l'utilisation d'insecticides lors de pratiques agricoles. Au cours de son activité ouvrière, l'abeille peut être intoxiquée de diverses façons :

- Par contact direct lors de pulvérisation de l'insecticide, ou indirect lors du contact avec les parties florales traitées,
- Par ingestion après contamination du nectar, du pollen, voire du miellat des pucerons, ou par ingestion d'eau contaminée (INRA, 1992 et Dibos, 2005).

2.1. Évaluation de la toxicité

Les méthodes les plus utilisées pour estimer le risque des insecticides sur les abeilles, sont basées essentiellement sur l'évaluation de la toxicité aiguë ou chronique chez les individus adultes et le couvain. On distingue différentes formes de toxicité :

- La toxicité aiguë, induite par l'administration d'une dose unique de toxique.
- La toxicité subchronique ou subaiguë, induite par l'administration des doses répétées pendant un temps relativement court,
- La toxicité chronique, induite par l'administration de doses répétées pendant un temps relativement long (Suchail, 2001).

2.2. Les voies de contaminations

La contamination peut être cutanée ou par inhalation ou ingestion et l'intoxication des abeilles par les insecticides peut survenir en différentes circonstances au moment de l'application ou peu après :

- Des abeilles butinent sur la culture au moment de la pulvérisation ;
- Des abeilles récoltent nectar, pollen et eau contaminée après l'application d'un pesticide sur une culture et les transportent à la ruche, contaminant ainsi la colonie ;
- La dérive d'un insecticide se dépose sur des plantes en fleurs, sur les ruches, sur les sources d'eau des abeilles à proximité de la culture visée par l'application du produit (Michaud, A., & Abou Niang, M. (2015))

2.3. Bio-pesticides

2.3.1. Généralité

Les bio-pesticides sont des composés capables de lutter contre les maladies agricoles sans nuire à l'écosystème naturel, ils offrent certainement un meilleur moyen de gérer simultanément les maladies des plantes et l'environnement et ont un potentiel énorme pour remplacer ou réduire l'utilisation des pesticides synthétiques et les coûts qu'ils engendrent. En général, les bio-pesticides pour la gestion des maladies des plantes comprennent l'exploitation d'organismes naturels et de produits dérivés, des formulations de biocontrôle, des huiles essentielles, des extraits botaniques et également des nanobiocides. (Meshram, S., Bisht, S., & Gogoi, R. (2022)

2.3.2. Les bio-pesticides d'origine végétale

. Les bio-pesticides d'origine végétale sont dérivés de sources naturelles, telles que les plantes, les champignons et les bactéries, et peuvent être utilisés pour lutter contre les parasites sans les effets nocifs des pesticides de synthèse. Voici quelques exemples de biopesticides d'origine végétale et leur signification (Isman, M. B., & Grieneisen, M. L. (2014) :

Huile de neem - extraite des graines du neem, c'est un insecticide naturel qui perturbe la croissance et la reproduction des insectes et les repousse. (Sibul, I., Ploomi, A., & Voolma, K. (2009).

Pyréthrine - extraite de la fleur de chrysanthème, c'est un insecticide naturel qui cible le système nerveux des insectes. (Plapp, F. W., & Vinson, S. B. (1977).

Roténone - extrait des racines de plusieurs légumineuses tropicales, c'est un insecticide naturel qui agit en inhibant la production d'énergie des ravageurs. (Sadhu, M. J., Bloom, J. S., Day, L., Siegel, J. J., Kosuri, S., & Kruglyak, L. (2018).

Huile d'ail - extraite des bulbes d'ail, elle possède des propriétés antifongiques et insecticides et peut être utilisée pour lutter contre les maladies fongiques et les parasites. (Jha, S. N., Narsaiah, K., Basediya, A. L., Sharma, & al. (2011)

Huile de cannelle - extraite de l'écorce de cannelle, elle a des propriétés antifongiques et insecticides et peut être utilisée pour lutter contre les maladies fongiques et les parasites. (Kasim, N. N., Ismail, S. N. A. S., Masdar, & al (2014).

2.4. Effets insecticides des huiles essentielles sur les abeilles

Il est très courant que les apiculteurs utilisent des extraits de plantes pour lutter contre pathogènes des abeilles. Les huiles essentielles sont contenues dans environ 17 500 espèces de plantes aromatiques et peuvent être extrait principalement par distillation à la vapeur pour diverses applications industrielles, y compris les plantes protection contre les ravageurs

(Mehlhorn, H., Al-Rasheid, K. A.,& al. (2012) ces sont produites comme métabolites secondaires par ces plantes pour la protection contre les micro-organismes, insectes, herbivores et interactions allélopathiques (Efsa, G. (2008)

Ils peuvent avoir des effets à la fois positifs et négatifs sur les abeilles en fonction de leur composition, de leur concentration et de leur mode d'application. Certaines huiles essentielles peuvent avoir des propriétés antimicrobiennes, antiparasitaires et répulsives, qui peuvent être bénéfiques pour la santé et la survie des abeilles. Cependant, certaines huiles essentielles peuvent également être toxiques pour les abeilles, notamment lorsqu'elles sont appliquées à des concentrations élevées ou lorsqu'elles sont utilisées de manière inappropriée. (Ali, S. E., Khan, K. A., & Ahmad, M. 2018).

Des études scientifiques ont montré que certaines huiles essentielles peuvent affecter la survie, le comportement et la physiologie des abeilles. Par exemple, une étude a montré que l'huile essentielle de thym peut réduire la survie et le poids des abeilles, tandis que l'huile essentielle de menthe poivrée peut réduire le taux de ponte de la reine et la croissance des larves. (Wu, J. Y., Anelli, C. M., & al. (2011). Ainsi d'autre expériences testant les effets des extraits de plantes sur les abeilles adultes, mais il existe peu d'études évaluant les effets des composés qu'ils contiennent aux premiers stades de la vie, y compris les larvesDai, P., Jack, C. J., Mortensen,& al. (2018). C'est pourquoi l'élevage de larves d'abeilles mellifères dans des conditions de laboratoire est un outil si important, en particulier les abeilles ouvrières les plus nombreuses responsables du bon fonctionnement d'une abeille, car cela permet d'obtenir des résultats reproductibles et standardisés (Apic et al., 2013).

Il est important de noter que les effets des huiles essentielles sur les abeilles peuvent varier en fonction des espèces d'abeilles et des conditions environnementales. Par conséquent, il est recommandé de procéder à des essais et des évaluations approfondis pour déterminer les effets spécifiques des huiles essentielles sur les abeilles (Ali et al., 2018).

2.5. Méthode d'évaluation de la toxicité des bio-pesticides chez les abeilles 2.5.1. La toxicité aigüe

La toxicité aiguë des bio-pesticides sur les abeilles fait référence à la capacité des bio-pesticides à provoquer une toxicité immédiate ou à court terme chez les abeilles lors qu'elles sont exposées à des doses élevées. Cette toxicité peut entraîner une mortalité significative des abeilles ou d'autres effets néfastes sur leur santé et leur comportement. Les bio-pesticides comprennent des produits biologiques tels que des insecticides, des fongicides et des herbicides dérivés de sources naturelles telles que les plantes, les bactéries et les champignons (PPR, 2015; Wang, 2020).

Plusieurs études ont démontré la toxicité aiguë des biopesticides sur les abeilles. Une étude a révélé que l'exposition à un fongicide à base de champignon, le Beauveria bassiana, a entraîné une mortalité significative des abeilles, même à des doses faibles (Sanchez et Goka,, 2014). De même, une autre étude a montré que l'exposition à un insecticide à base de bactéries, le Bacillus thuringiensis, a entraîné une mortalité accrue des abeilles (Alzahrani, 2019; Simon et al., 2015).

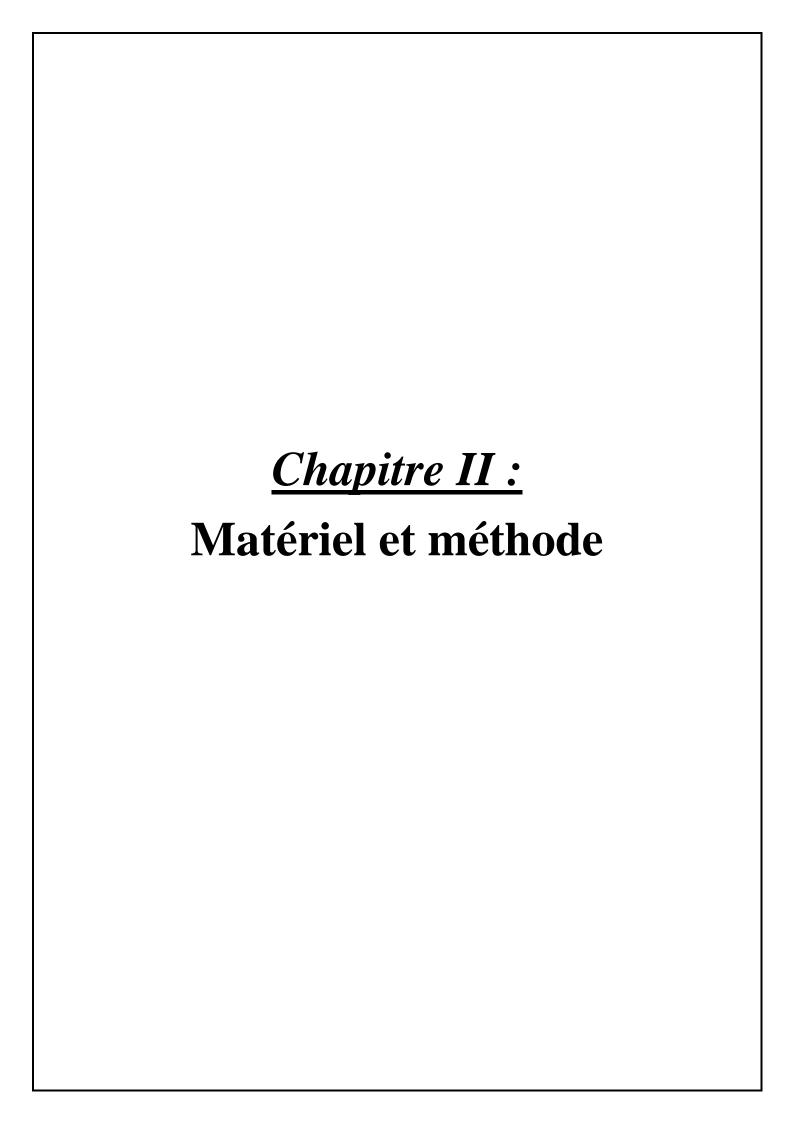
Les mécanismes exacts de la toxicité aiguë des bio-pesticides sur les abeilles ne sont pas complètement compris. Cependant, certaines études ont suggéré que les bio-pesticides peuvent perturber le système nerveux des abeilles, entraînant une désorientation, une paralysie et finalement la mort. D'autres études ont suggéré que les biopesticides peuvent interférer avec le macrobiote intestinal des abeilles, ce qui peut affecter leur système immunitaire et leur capacité à résister aux maladies (Tison et al., 2021).

Il est important de noter que la toxicité aiguë des bio-pesticides sur les abeilles dépend de plusieurs facteurs, notamment la dose, la durée et la voie d'exposition. Par conséquent, il est important de prendre des mesures appropriées pour minimiser l'exposition des abeilles aux bio-pesticides, telles que l'application des bio-pesticides en dehors des heures de vol des abeilles et l'utilisation de formulations qui minimisent la dérive des produits vers les zones où les abeilles se nourrissent et se reproduisent (ohnson et al., 2013).

2.5.2. La DL50

Les méthodes les plus utilisées pour estimer le risque des insecticides sur les abeilles, sont basées essentiellement sur l'évaluation de la toxicité aiguë ou chronique chez les individus adultes et le couvain. On distingue différentes formes de toxicité :

- La toxicité aiguë, induite par l'administration d'une dose unique de toxique.
- La toxicité subchronique ou subaiguë, induite par l'administration des doses répétées pendant un temps relativement court,
- La toxicité chronique, induite par l'administration de doses répétées pendant un temps relativement long (Suchail, 2001).



Chapitre II- Matériel et méthode

Introduction

Les tests classiques de toxicologie de l'abeille mettent en œuvre une administration des pesticides par contact topique ou par ingestion (méthode 95 de la commission des Essais biologiques (CEB 95). Les abeilles peuvent s'intoxiquer soit par ingestion de Pesticide et /ou de métabolites contenus dans le nectar ou le pollen dans le cas des insecticides qui sont t pulvérisés sur les végétaux. Pour se rapprocher du mode de contamination, induit par les pesticides, les intoxications par voies topiques et orales de l'huile essentielle qui est un biopesticides d'origine végétale sont effectuées.

La méthode toxicologique débute par l'étude de la toxicité aigüe permettant d'évaluer la toxicité intrinsèque de l'huile essentielle chez l'abeille domestique locale par la détermination de la DL 50.

I. Matériel

1.1. Matériel biologique

I .1.1. Les abeilles

Nous avons testé des ouvrières prélevées sur les cadres à miel et de pollen de ruche *d'Apis mellifera intermissa* (figure14), au rucher expérimental de laboratoire VALCORE à condition que ces abeilles présentent un état général satisfaisant et une absence des symptômes pathologique visible et qu'elles ne sont pas traitées avec des acaricides (contre le Varroa: acarien parasite d'abeilles).Les abeilles utilisées sont des abeilles de printemps.



Figure 14 : Cadre du couvain d'où sont prélevées les abeilles Apis mellifera intermissa

I.2.2. Matériel végétal

Dans notre étude, nous avons utilisé les parties aériennes de la plante aromatique d'Algérie : *Lavandula stoechas* qui a été récoltée dans la région de Boumerdès, de la saison floraison.

2. Matériel non biologique

2.1. Matériel du laboratoire

Le matériel de laboratoire que nous avons utilisé comprend tous les réactifs et produits chimiques nécessaires, ainsi que des équipements, des instruments et de la verrerie (annexe1).

2.2. Cagette de contention

Les cagettes de contention des abeilles sont d'un volume compris entre 0,5 et 1 dm3, elles sont utilisées pour l'isolement (généralement de type pain : 10 X 8,5 X 6 cm). Les cages doivent être en matière plastique, en acier inoxydable (Figure 15).



Figure 15 : Cagette pain modifiées (10 x 8,5 x 6 cm)

2. 3. Méthodes expérimentales

2.3.1. Méthode de séchage

Les plantes sont séchées en l'exposant à l'air libre, dans un endroit sec et bien ventilé, à l'abri de la chaleur et de la lumière directe.

2.3.2. Extraction des huiles essentiales

Dans notre étude, nous avons effectué l'extraction de l'huile essentielle au laboratoire VALCORE par la méthode de l'hydrodistilation. Avant de commencer l'extraction, il est nécessaire de nettoyer toutes les composantes de l'appareil avec de l'acétone, puis de les rincer

à l'eau distillée afin d'éliminer tout résidu présent à l'intérieur de l'appareil. Cette étape de nettoyage vise à prévenir toute contamination des huiles pendant le processus d'extraction.

2.3.3. Protocole d'extraction par hydrodistilation

Un échantillon de 100 g de matière sèche de la lavande est placé dans un ballon de 2000 ml. Ensuite, la matière végétale a été immergée dans 750 ml d'eau distillée. Par la suite, le ballon est placé sur un chauffe-ballon pendant environ trois heures. Une fois que la première goutte d'hydrolat est apparue à la sortie du tube de condensation de la vapeur, l'hydrolat est éliminé afin de récupérer l'huile essentielle.

Après la condensation, l'huile essentielle récupérée et conservée dans un flacon en verre fermé hermétiquement à une température de 4°C pour prévenir la dégradation des huiles (figure 16).

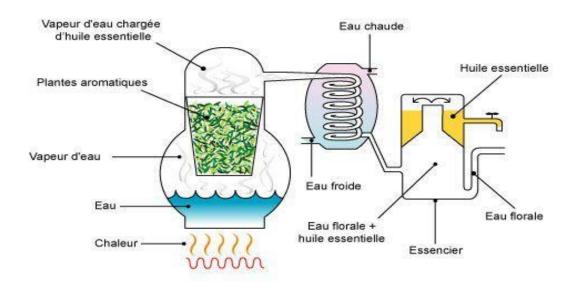


Figure 16: Extraction des huiles essentielles (jerry L.J 2020)

3. Etude toxicologique

3.1. Préparation et conservation des abeilles

3.2.1. Prélèvement des abeilles

Les abeilles sont prélevées dans la colonie la veille de l'essai. Après prélèvement, elles sont immédiatement soumises à une anesthésie afin d'être réparties dans les cages de contention a raison de 20 individus par cage. Des abeilles supplémentaires sont à prévoir pour remplacer les individus morts ou présentant ou des comportements anormaux.

3.2.2. Modalité de l'anesthésie

Toutes les abeilles subissent une anesthésie pour être réparties dans les cages de contention. Le jour du traitement seules les abeilles utilisées pour le test de contact sont soumises à une deuxième anesthésie pour subir le traitement.

L'anesthésie est réalisée par diffusion de dioxyde de carbone dans les boites de prélèvement ainsi que dans les cages de contention pour les tests de toxicité de contact. L'emploi de dioxyde de carbone est dispersé avec un débit faible de ne pas provoquer une baisse importante de la température au sein des boites de prélèvement ou de contention.

3.2.3. Conservation des abeilles

Les abeilles sont placées à l'obscurité climatisée à $25 \pm 2^{\circ}$ C et a une humidité relative supérieur à 50% et 70%. Le taux d'humidité est assuré par la présence de bacs d'eau placés dans l'enceint.



Figure 17: Conservation des abeilles traitées dans l'étuve

3.3. Définition d'un essai

L'unité expérimentale est la cage de 20 abeilles. Chaque essai comprend les modalités de traitement suivantes :

- Traitement témoin : solution de saccharose a 50%(p/v) soit 555g/L.
- Traitement avec 5 doses au moins de l'huile essentielle ou préparation à tester.
- Chaque modalité de traitement comprend 3 cages d'abeille à chaque test.

• Les traitements témoins permettent d'estimer la mortalité naturelle et de vérifier la qualité des abeilles utilisées dans le test.

3.4. Mode d'administration

La méthode de laboratoire officielle CEB n°95 permet d'évaluer la toxicité aiguë des produits phytopharmaceutiques, chez l'abeille adulte ouvrière *Apis mellifera L.*, par détermination des doses létales 50 (DL50) orale et de contact 24, 48 et 72 heures après les traitements.

La toxicité aiguë, définie comme la toxicité induite par l'administration d'une dose unique de toxique après ingestion ou contact, a été étudiée (Suchail et *al.*, 2001). C'est pour se rapprocher des modes de contamination induits par les insecticides les intoxications par voie orale et de contact ont été testées.

3.4.1. Toxicité orale

Le jour de l'essai, les abeilles probablement réparties en cagettes, sont alimentées au moyen de solutions contenant le produit à tester à différentes doses.

Avant le traitement les abeilles sont soumises à un jeune de 2 heures à $25 \pm 2^{\circ}$ C et à l'obscurité. Elles sont ensuite nourries avec 200μ l (soit 10μ l par abeille) d'une solution de saccharose 55,5% (p/v) final contenant l'huile essentielle à différentes doses. Après avoir consommé le sirop contaminé, les abeilles sont alimentées avec du candi sain. Si les abeilles n'ont pas consommé au bout 2 heures (3heures), ce dernier est remplacé par du candi sain et la quantité de sirop contaminé consommé est notée afin de calculer la dose réellement absorbée.

4.1. Préparation des solutions de produit

4.1.1. Solutions du produit à tester

Les solutions de substances actives doivent être préparées dans de l'acétone de sorte que la concentration finale en acétone dans le sirop de nourrissage soit 1% (v/v). Si le composé à étudier n'est pas soluble dans l'acétone aux concentrations expérimentales, il est possible d'utiliser d'autres solvants tels que le diméthysulfoxyde ou le diméthylsulfoxyble ou de diméthylformamide, a la même concentration finale, ou d'augmenter à 10% (v/v) la concentration finale d'acétone dans le sirop de saccharose à 500 g l-l.

Les dilutions de préparations phytopharmaceutiques doivent être faites avec de l'eau d'ionisée, à chaque fois que cela est possible.

La proportion de solution à tester dans le sirop ne doit pas excéder 10% du volume final. Une

proportion différente doit être justifiée. Dans tous les cas, il est impératif d'utiliser un volume fixe pour les différentes dilutions de produits afin de conserver constant le rapport entre la proportion volumique de sirop et la proportion volumique de produit à tester.





Figure 18 : Préparation des solutions

Figure 19 : Solution acétone



Figure 20 : Agitateur de l'Iaboratoire

Toxicité par Application topique

On dissout les matières actives dans de l'acétone (pureté : 99%). On applique 1µ1 d'acétone contaminé sur le thorax de l'abeille en utilisant une micropipette de 2µ1. Avant le traitement, les

abeilles sont anesthésiées en diffusant du dioxyde de carbone dans la cage d'élevage durant environ 30 secondes et sous une faible pression. Puis on les met sur de la glace.

Chaque test comprend les modalités de traitements suivantes :

- 3 cagettes témoins correspondant aux individus ayant reçu 1µl d'acétone non contaminé.
- pour l'huile essentielle testée, 3 cagettes par dose, et 5 doses croissantes :

1%, 2%, 4% 8% et 10% par abeille.

Les cagettes d'élevage sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée à 25 ± 2 °C, à une humidité relative de 50 à 70% avant et après traitement.

5. Etude statistique

5.1. Contrôle de la mortalité

Toutes les abeilles parfaitement immobiles, au moment des observations, sont considérées comme mortes. Les taux de mortalité des abeilles témoins et traitées sont calculés par la formule suivante:

$$Taux de mortalité \% = \frac{Nombre de mort}{Nombre total d'individus} \times 100$$

5.1.1. La mortalité corrigée

Les mortalités sont exprimées en pourcentage de la population initiale après avoir été préalablement corrigées selon la formule d'Abbott (1925) :

$$M_c = \frac{P - T}{S} X100$$

Avec:

M_c: Pourcentage de mortalité corrigée

P : Mortalité brute (induit par le produit)

T : Mortalité de témoin

S : Nombre de survivant chez les témoins

Pour que le test soit valide, la mortalité dans la cagette témoin doit être inférieure à 10% de la population initial d'abeilles.

5.2. Détermination de la DL50

La dose létal 50 (DL50) représente la dose de toxique conduisant à la mort de 50% des individus. Cette DL50 rend compte de la toxicité intrinsèque de la substance active considérée.

Pour la DL50, nous avons procédé à une transformation en probit des pourcentages des mortalités corrigés, et la transformation en logarithme décimal de la dose.

Ces transformations nous permettent d'établir de droite de régression "probit logarithme" de type:

Y=aX+b

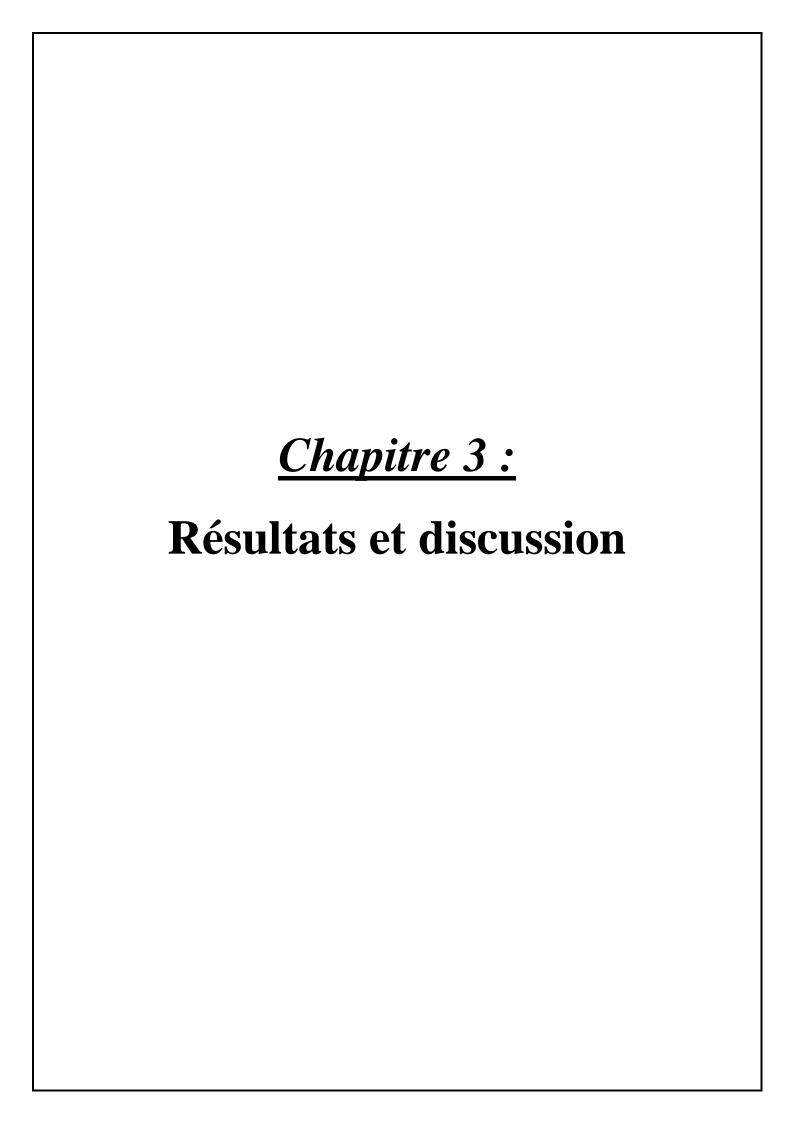
Y: Probit des mortalités corrigées

X: Logarithme des doses

La DL50 sera égale à l'anti-log X avec: X= log dose, correspond au probit de 50 de graphe de régression.

5.3. Analyse statistique

Les données ont été analysées en utilisant le logiciel XLSTAT 2012, on faisant appel à un test ANOVA à un facteur. Une valeur de p< 0,05 est considérée comme significative.



Chapitre III résultats et discussion

Chapitre 3: résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Rendement de l'huile essentielle de la plante L. stoechas

Les résultats du rendement moyen de l'extraction par l'hydrodistillation de la plante aromatiques, *L. stoechas* récoltée dans la région de Boumerdes sont consignés dans le tableau (1)

Tableau 01 : Pourcentage du rendement de l'huile essentielle de la plante *L. stoechas*.

La Plante	Matière sèche (g)	L'huile (ul)	Rendement % en
			HE
L. stoechas	100	400	0.40

Le rendement en huile essentielle obtenu par rapport à la matière sèche de la plante L. stoechas est de 0.40%

1.2. Les symptômes induits par la toxicité aiguë de l'huile essentielle de lavande

Pour l'étude de la toxicité orale, les abeilles ingèrent en moyenne 1%, 2%, 4%, 8% et 10% de l'huile essentielle mélangée à la solution de saccharose. Lors de la toxicité topique, 1µl d'huile essentielle à une dose donnée est déposé sur le thorax de chaque abeille. La mortalité des abeilles est suivie pendant 24, 48 et 72 heures.

Les symptômes observés chez *Apis mellifera intermissa* autres que la mortalité, lors de l'intoxication orale et par contact par l'huile essentielle de lavande ne ressemblent pas à ceux observés avec des substances chimiques telles que les insecticides Néonicotinoides: l'Imidaclopride et Thiaméthoxame. En revanche, l'apparition des premières mortalités n'est observée que 24 h après l'ingestion du toxique. Ces remarques nous laissent penser sur les différentes causes de la mortalité des abeilles domestiques sans l'effet de cette huile comme l'âge des abeilles, les parasites et maladies, les différentes stresses (environnementales, alimentation...). Il est important de noter que ces causes de mortalité peuvent souvent être interconnectées et agir de manière synergique, exacerbant les effets néfastes sur les abeilles.

1.3. Toxicité aigüe chez Apis mellifera intermissa

1.3.1. Toxicité aigüe par contact

1.3.1.1. Essai 1

Les résultats de toxicité aigüe de 1^{er} essai par contact, obtenus lors de dénombrement après traitement à base d'huile essentielle de la lavande, sont représentés sur le tableau 02.

Tableau 02 : Toxicité aiguë par application topique à l'huile essentielle vis-à-vis des lots d'abeilles *Apis mellifera intermissa*.

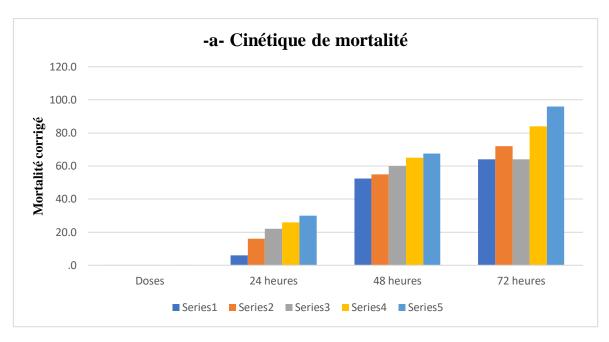
Doses	Log Dose	Temps	Mortalité	Mortalité	Probits
(%)		(Heure)	Brute	Corrigée (%)	2.45
		24	4.33	6.00	3.45
$D_1 = 1$	0.00	48	13.67	52.44	5.06
		72	17.00	63.99	5.36
		24	6	16.02	4.02
$D_2=2$	1	48	14	54.99	5.12
		72	17.67	71.91	5.58
		24	7	22.02	4.24
$D_3 = 4$	1.3	48	14.67	59.94	5.25
		72	17	63.99	5.36
		24	7.67	25.97	4.36
$D_4 = 8$	1.7	48	15.33	64.97	5.41
	0.00	72	18.67	83.91	5.99
		24	8.33	29.99	4.47
$D_5 = 10$	1.95	48	15.67	67.44	5.46
		72	19.67	95.92	6.74
Témoin		24	3.33		-
	-	48	6.67		-
		72	11.67		-

Au bout de 24h de traitement, les doses D4 et D5 ont donné les taux de mortalité les plus importants qui sont de 25.97% et 29.99% respectivement.

La mortalité corrigée la plus élevée obtenue par la forte dose (D5) continue d'augmenter jusqu'à 72h de 95.92%.

Pour la dose la plus faible D1, le taux de mortalité corrigée 1 (6%) a été enregistré 24 h après traitement. Pour la faible dose D3, un taux de mortalité de 63.99% a été enregistré 72h après traitement.

Les résultats de la cinétique de mortalité et relation dose-mortalité sont représentés respectivement sur la Figure 21.



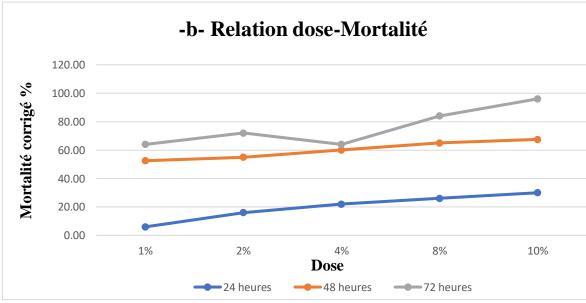


Figure 21 : Toxicité topique aigue de l'huile essentielle de lavande chez l'abeille *Apis mellifera intermissa*

a: la mortalité des abeilles est suivie à différents temps pour une dose donnée du huile essentielle : 1%, 2%, 4%, 8%, et 10 (%).

b: la mortalité corrigée correspond à la mortalité des abeilles intoxiquées par huile essentielle en relevant la mortalité des abeilles par contact.

1.3.1.1.2. Détermination de la DL50

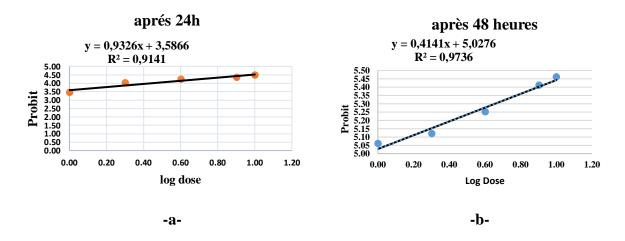
On obtient les valeurs de DL50 à partir des droites de régression représentées sur la Figure 22.

Le tableau 03 récapitule les analyses de l'effet des doses croissantes de l'huile essentielle de la lavande sur le taux de mortalité des lots d'abeilles.

Tableau 03 : Récapitulatif des analyses de l'effet des doses testées sur le taux de mortalités des lots d'abeilles

Temps (heures)	Équation de droite	DL50 %	Lim inf. <dl50 (%)<="" <="" lim="" sup.="" th=""><th>R</th></dl50>	R
24	y = 0.9326x + 3.5866	32,35%	10< 32,35 < 34	0,95608577
48	y = 0.4141x + 5.0276	0,87	0<0,87<1	0,98671171
72	y = 1,1007x + 5,1882	0,67	0 < 0,67< 1	0,78759126

D'après le tableau ci-dessus, il ressort que la DL50 obtenue par l'huile essentielle de la lavande est de l'ordre de 32.35% après 24h, et de 0.87 % après 48h et 72h de traitement aux différentes doses. Cette dernière est de 0.67%.



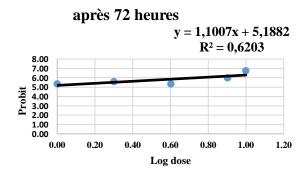


Figure 22 : Toxicité topique aigue de l'huile essentielle de lavande chez l'abeille *Apis mellifera intermissa*

1.3.1.2. Essai 2

Les résultats de toxicité aigüe de 2^{ème} essai par contact, obtenus lors de dénombrement après traitement à base d'huile essentielle, sont représentés dans le tableau 04.

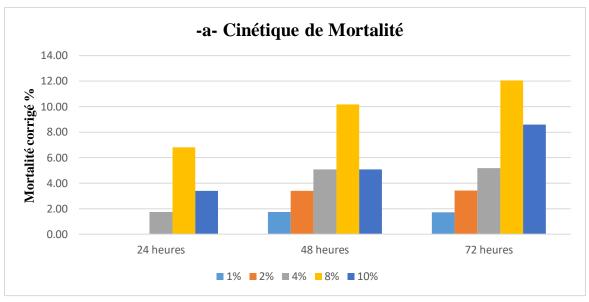
Tableau 04 : Toxicité de l'huile essentielle de la lavande vis-à-vis des lots d'abeilles *Apis mellifera intermissa*

	Log dose	Temps	Mortalité	Mortalité	Probits
(%)		(Heure)	Brute	Corrigée (%)	
		24	0.33	0.00	-
$\mathbf{D}_{\scriptscriptstyle 1} = 1$	0	48	0.67	1.73	-
		72	1.00	1.71	-
		24	0.33	0	-
$D_2=2$	0	48	1	3.41	-
		72	1.33	3.41	-
		24	0.67	1.73	-
$D_3 = 4$	0	48	1.33	5.08	-
		72	1.67	5.17	-
		24	1.67	6.81	-
$D_4 = 8$	0	48	2.33	10.17	-
		72	3	12.05	-
		24	1.33	3.41	-
$D_s=10$	0	48	1.33	5.08	-
		72	2.33	8.59	-
Témoin		24	0.33	=	-
	-	48	0.33	-	-
		72	0.67	-	-

Au bout de 24h de traitement, les doses D5 et D4 ont donné des taux de mortalité les plus élevés qui sont respectivement de 3.41% et 6.81 % ne pas dépassant ainsi les 50%. Et donc la mortalité corrigée la plus élevée est obtenue par la D4.

Pour les doses les plus faibles D1et D2 les taux de mortalités corrigées le plus élevé est 1,71% et 3.41% ont été enregistrés au bout de 72 h après traitement.

Les résultats de la cinétique de mortalité et relation dose-mortalité sont représentés respectivement sur la Figure 23.



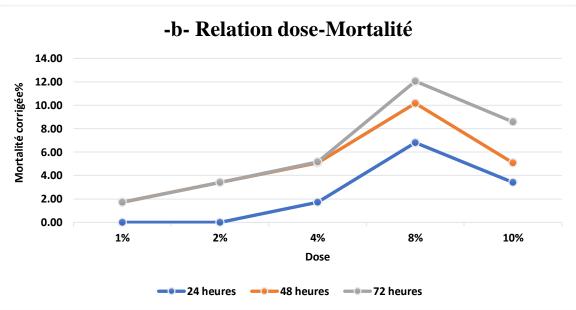


Figure 23 : Toxicité aigüe par contact de l'huile essentielle chez l'abeille *Apis mellifera* intermissa

a: la mortalité des abeilles est suivie à différents temps pour une dose donnée du huile essentielle de la lavande : 1%, 2%, 4%, 8% et $10 \mu l$.

b: la mortalité corrigée correspond à la mortalité des abeilles intoxiquées par la huile essentielle en relevant la mortalité des abeilles ayant reçu par application topique 1 µl d'acétone.

La DL50 n'a pas pu être calculé car le taux de mortalité est très faible ne déplace pas 50% (Figure23).

1.3.2.2. Toxicité par ingestion

1.3.2.2.1. Essai

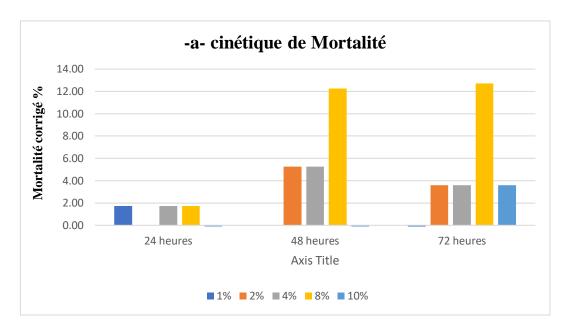
Les résultats de toxicité aigüe par ingestion, obtenus lors de dénombrement après traitement à base de l'huile essentielle de la lavande, sont représentés dans le tableau 05.

Tableau 05: Toxicité de l'huile essentielle de la lavande vis-à-vis des lots d'abeilles *Apis mellifera intermissa*

Doses	Log dose	Temps	Mortalité	Mortalité	Probits
(ng/µl)		(Heure)	Brute	Corrigée (%)	
		24	1.33	5.08	-
$\mathbf{D}_1 = 1$	0	48	1.00	3.41	-
		72	1.33	5.08	-
		24	1	3.41	-
$D_2=2$	0	48	2	8.49	-
		72	2.33	10.17	-
		24	1.33	5.08	-
$D_3 = 4$	0	48	2	8.49	-
		72	2.33	10.17	-
		24	1.33	5.08	-
$D_4 = 8$	0	48	3.33	15.25	-
		72	4	18.66	-
		24	0.33	0.00	-
$D_5 = 10$	0	48	0.67	1.73	-
		72	2.33	10.17	-
Témoin		24	1.00	-	-
	-	48	1.00	-	-
		72	1.67	-	-

Au bout de 72h de traitement, la dose D4 a donné le taux de mortalité le plus important qui est de 12.71%. Par contre, la dose D5 a enregistré le taux de mortalité le plus important qui est de 3.60%.

Pour la dose la plus faible D1, le taux de mortalité corrigé le plus élevé est de 1.74% a été enregistré au bout de 24h après traitement.



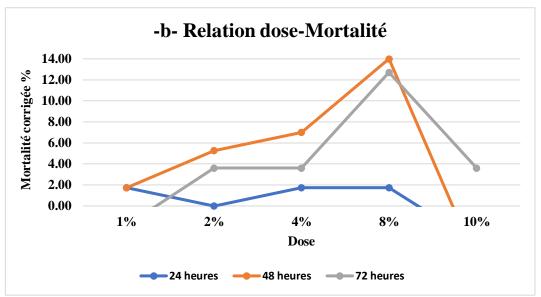


Figure 24 : Toxicité aigüe par ingestion de l'huile essentielle chez l'abeille *Apis mellifera intermissa*

 ${\bf a}$: la mortalité des abeilles est suivie à différents temps pour une dose donnée du huile essentielle de la lavande : 1%, 2%, 4%, 8% et 10%.

b : la mortalité corrigée correspond à la mortalité des abeilles intoxiquées par le huile essentielle en relevant la mortalité des abeilles ayant reçu par application topique 1µl d'acétone.

La DL50 n'a pas pu être calculé car le taux de mortalité est très faible ne déplace pas 50% Figure 24.

1.4. L'analyse de la variance (ANOVA à un seul facteur)

1.4.1. Toxicité aiguë chez Apis mellifera intermissa

1.4.1.1. Par application topique

1.4.1.1.1. Essai 1

Le tableau 06 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables (H0=Y=Moy(Y))

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	1401,6852	200,2407	49,9496	< 0,0001
Erreur	46	184,4074	4,0089		
Total corrigé	53	1586,0926			

La probabilité associée au F étant de : 0,0001, la différence est très significative.

Tableau 07 : Paramètres du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr > t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
	v alcui	standard		11 > t		, ,
Constante	12,0370	0,7707	15,6193	< 0.0001	10,4858	13,5883
doses-D1	4,4444	0,9439	4,7088	< 0.0001	2,5446	6,3443
doses-D5	7,3333	0,9439	7,7696	< 0.0001	5,4335	9,2332
doses-D2	5,3333	0,9439	5,6506	< 0.0001	3,4335	7,2332
doses-D3	5,6667	0,9439	6,0038	< 0.0001	3,7668	7,5665
doses-D4	6,6667	0,9439	7,0633	< 0.0001	4,7668	8,5665
doses-T	0,0000	0,000				
Temps-24h	-10,8333	0,6674	-16,2320	< 0.0001	-12,1767	-9,4899
Temps-48h	-3,6111	0,6674	-5,4107	< 0.0001	-4,9545	-2,2677
Temps-72h	0,0000	0,0000				

On remarquera là encore que l'intervalle de confiance pour l'effet des doses, D2, D3, D4 et D5 ne comprend pas la valeur 0, ce qui indique qu'elles sont significativement différentes du témoin.

→ Tests de comparaisons multiples pour la variable Doses

Tableau 08 : Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
					Significatif
D5 vs T	7,3333	7,7696	2,9732	< 0.0001	Oui
D5 vs D1	2,8889	3,0607	2,8391	0,0288	Oui
D5 vs D2	2,0000	2,1190	2,6653	0,1623	Non
D5 vs D3	1,6667	1,7658			Non
D5 vs D4	0,6667	0,7063			Non
D4 vs T	6,6667	7,0633	2,8391	< 0.0001	Oui
D4 vs D1	2,2222	2,3544	2,6653	0,1007	Non
D4 vs D2	1,3333	1,4127			Non
D4 vs D3	1,0000	1,0595			Non
D3 vs T	5,6667	6,0038	2,6653	< 0.0001	Oui
D3 vs D1	1,2222	1,2949	2,4220	0,4052	Non
D3 vs D2	0,3333	0,3532			Non
D2 vs T	5,3333	5,6506	2,4220	< 0.0001	Oui
D2 vs D1	0,8889	0,9418	2,0129	0,3512	Non
D1 vs T	4,4444	4,7088	2,0129	< 0.0001	Oui

Le test de Newman-Keuls réalisé avec un risque de 5% indique que les paires (D 5~T), (D5~D1), (D3~D2), (D4~T), (D3~T), (D2~D2), (D1~T) sont significativement différentes, par contre les paires (D5~D2), (D5~D3), (D5~D4), (D4~D1) (D4~D2), (D4~D3), (D3~D1), (D3~D2), (D2,D1) ne sont pas significativement différentes.

Tableau 09 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements		
D5	14,556	A		
D4	13,8889	A	В	
D3	12,8889	A	В	
D2	12,556		В	
D1	11,6667		В	
T	7,222			С

Le Classement et regroupements des groupes non significativement différents montrent à l'instant du test de Newman-Keuls que les la dose D5 forme un groupe homogène A qui n'est

Chapitre III résultats et discussion

pas significativement différent, alors que les doses D4 et D3 forment un groupe homogène A et B qui n'est pas significativement différent. Les doses D1 et D2 forment un groupe homogène B qui n'est pas significativement différent, Témoin forme un groupe homogène C qui n'est pas significativement différent, B qui n'est pas significativement différent.

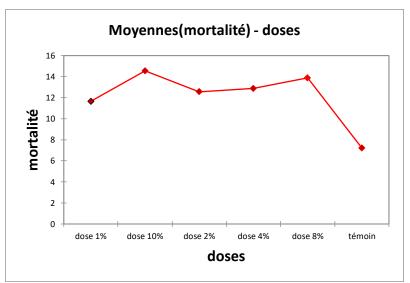


Figure 25: Graphique des moyennes

1.4.1.2.2. Essai 2:

Le tableau 10: Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables (H0=Y=Moy(Y

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	29,2407	4,1772	9,8447	< 0,0001
Erreur	46	19,5185	0,4243		
Total corrigé	53	48,7593			

La probabilité associée au F étant de : 0,0001, la différence est très significative.

Tableau 11 : Paramètres du modèle

		Erreur			Borne inférieure	Borne supérieure
Source	Valeur	standard	T	Pr > t	(95%)	(95%)
Constante	0,9074	0,2507	3,6192	0,0007	0,4027	1,4121
doses-D1	0,2222	0,3071	0,7237	0,4729	-0,3959	0,8403
doses-D2	0,4444	0,3071	1,4474	0,1546	-0,1737	1,0625
doses-D3	0,7778	0,3071	2,5329	0,0148	0,1597	1,3959
doses-D4	1,8889	0,3071	6,1513	< 0.0001	1,2708	2,5070
doses-D5	1,2222	0,3071	3,9803	0,0002	0,6041	1,8403
doses-T	0,0000	0,0000				
Temps-24h	-0,8889	0,2171	-4,0938	0,0002	-1,3260	-0,4518
Temps-48h	-0,5000	0,2171	-2,3027	0,0259	-0,9371	-0,0629
Temps-72h	0,0000	0,0000				

On remarquera là encore que l'intervalle de confiance pour l'effet des doses, D2, D3, D4 et D5 ne comprend pas la valeur 0, ce qui indique qu'elles sont significativement différentes du témoin.

→ Tests de comparaisons multiples pour la variable Doses :

Tableau 12 : Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

		Différence	Valeur		
Contraste	Différence	standardisée	critique	Pr > Diff	Significatif
D4vs T	1,8889	6,1513	2,9732	< 0.0001	Oui
D4 vs D1	1,6667	5,4276	2,8391	< 0.0001	Oui
D4 vs D2	1,4444	4,7039	2,6653	0,0001	Oui
D4 vs D3	1,1111	3,6184	2,4220	0,0021	Oui
D4 vs D5	0,6667	2,1711	2,0129	0,0351	Oui
D5 vs T	1,2222	3,9803	2,8391	0,0022	Oui
D5 vs D1	1,0000	3,2566	2,6653	0,0110	Oui
D5 vs D2	0,7778	2,5329	2,4220	0,0386	Oui
D5 vs D3	0,4444	1,4474	2,0129	0,1546	Non
D3 vs T	0,7778	2,5329	2,6653	0,0680	Non
D3 vs D1	0,5556	1,8092			Non
D3 vs D2	0,3333	1,0855			Non
D2 vs T	0,4444	1,4474	2,4220	0,3256	Non
D2 vs D1	0,2222	0,7237			Non
D1 vs T	0,2222	0,7237	2,0129	0,4729	Non

Le test de Newman-Keuls réalisé avec un risque de 5% indique que les paires (D4~T), (D4~D1), (D4~D2), (D4~D5), (D5~T), (D5~D1), (D5~D2) sont significativement différentes, par contre les paires (D5~D3), (D3~T), (D3~D1), (D4~D1) (D3~D2), (D2~T), (D2~D1), (D1~T) ne sont pas significativement différentes.

Tableau 13 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Re	egroupements	
D4	2,3333	A		
D5	1,6667		В	
D3	1,2222		В	C
D2	0,8889			C
D1	0,6667			C
T	0,4444			C

Le Classement et regroupements des groupes non significativement différents montrent à l'instant du test de Newman-Keuls que la dose D4 forme un groupe homogène A qui n'est pas significativement différent. La doses 5 forme un groupe homogène B qui n'est pas significativement différent, alors que la dose D3 forme un groupe homogène B et C qui n'est pas significativement différent, et les doses D2, D1, T forment un groupe homogène C qui n'est pas significativement différent.

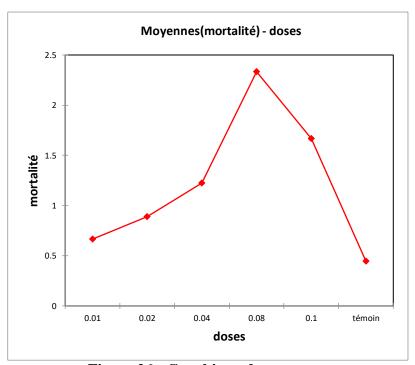


Figure 26 : Graphique des moyennes

1.4.1.1. Toxicité aiguë par ingestion

Le tableau 14 : Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables (H0=Y=Moy(Y

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	7	30,7963	4,3995	5,6978	< 0,0001
Erreur	46	35,5185	0,7721		
Total corrigé	53	66,3148			

La probabilité associée au F étant de : 0,0001, la différence est très significative.

Tableau 15 : Paramètres du modèle

		Erreur			Borne inférieure	Borne supérieure
Source	Valeur	standard	t	Pr > t	(95%)	(95%)
Constante	1,9074	0,3382	5,6396	< 0,0001	1,2266	2,5882
doses-D1	0,0000	0,4142	0,0000	1,0000	-0,8338	0,8338
doses-D5	-0,1111	0,4142	-0,2682	0,7897	-0,9449	0,7227
doses-D2	0,5556	0,4142	1,3412	0,1864	-0,2782	1,3894
doses-D3	0,6667	0,4142	1,6094	0.1144	-0,1671	1,5005
doses-D4	1,4444	0,4142	3,4871	0,0011	0,6106	2,2782
doses-T	0,0000	0,0000				
Temps-24h	-1,2778	0,2929	-4,3624	< 0,0001	-1,8674	-0,6882
Temps-48h	-0,7778	0,2929	-2,6554	0,108	-0,3674	-0,1882
Temps-72h	0,0000	0,0000		•		

On remarquera là encore que l'intervalle de confiance pour l'effet des doses, D2, D3, D4 et D5 ne comprend pas la valeur 0, ce qui indique qu'elles sont significativement différentes du témoin.

\rightarrow Tests de comparaisons multiples pour la variable Doses :

Tableau 16 : Newman-Keuls (SNK) / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 %

		Différence	Valeur		
Contraste	Différence	standardisée	critique	Pr > Diff	Significatif
D4 vs D5	1,5556	3,7553	2,9732	0,0061	Oui
D4 vs D1	1,4444	3,4871	2,8391	0,0091	Oui
D4 vs T	1,4444	3,4871	2,6653	0,0058	Oui
D4 vs D2	0,8889	2,1459	2,4220	0,0918	Non

Chapitre III				résultats et	discussion
D4 vs D3	0,7778	1,8776			Non
D3 vs D5	0,7778	1,8776	2,8391	0,3436	Non
D3 vs D1	0,6667	1,6094			Non
D3 vs T	0,6667	1,6094			Non
D3 vs D2	0,1111	0,2682			Non
D2 vs D5	0,6667	1,6094	2,6653	0,3835	Non
D2 vs D1	0,5556	1,3412			Non
D2 vs T	0,5556	1,3412			Non
T vs D5	0,1111	0,2682	2,4220	0,9611	Non
T vs D1	0,0000	0,0000			Non
D1 vs D5	0,1111	0,2682	2,0129	0,7897	Non

Le test de Newman-Keuls réalisé avec un risque de 5% indique que les paires (D4~D5), (D4~D1), (D4~T) sont significativement différentes, par contre les paires (D4~D2), (D4~D3), (D3~D5), (D3~D1) (D3~T), (D3~D2), (D2~D5), (D2~D1), (D2~T), (T~D5), (T~D1), (D1~D5), ne sont pas significativement différentes.

Tableau 17 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	R	egroupements	
D4	2,6667	A		
D3	1,8889	A	В	
D2	1,7778	A	В	
D1	1,2222		В	
T	1,2222		В	
D5	1,1111		В	

Le Classement et regroupements des groupes non significativement différents montrent à l'instant du test de Newman-Keuls que la dose D4 forme un groupe homogène A qui n'est pas significativement différent, les doses D3,D2 forment un groupe homogène B et A qui n'est pas significativement différent, alors que les doses D1, D2 forment un groupe homogène B qui n'est pas significativement différent.

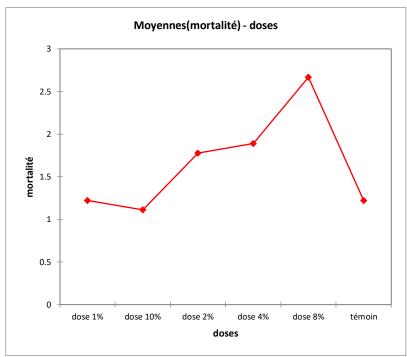


Figure 27 : Graphique des moyennes

Discussion générale :

Les symptômes observés chez l'Apis mellifera intermissa lors de leur exposition à l'huile essentielle de lavande, que ce soit par ingestion ou par contact, diffèrent de ceux observés avec des substances chimiques telles que les néonicotinoïdes. De plus, la mortalité des abeilles suite à cette exposition ne se manifeste qu'après 24 heures d'ingestion du toxique. Ces observations nous amènent à réfléchir sur les différentes causes de mortalité chez les abeilles domestiques, telles que l'âge des abeilles, les parasites, les maladies et les différents facteurs de stress environnementaux et alimentaires. Il est important de noter que ces facteurs de mortalité peuvent souvent être interconnectés et agir de manière synergique, augmentant ainsi les effets néfastes sur les abeilles. Les résultats de notre première expérience d'évaluation de la toxicité aiguë par contact, après traitement avec l'huile essentielle de lavande, ont également été pris en compte.

La méthode de laboratoire C.E.B. 95 permet d'évaluer la toxicité aiguë des produits phytopharmaceutiques, chez l'abeille adulte ouvrière *Apis mellifera* L., par détermination des doses létales 50% (DL50) orale et de contact 24 heures et 48 heures après les traitements. Dans le cadre de cette méthode, on entend par produits phytopharmaceutiques, les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives (Décret 94-359 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques). Cette méthode est en accord avec les annexes II et III de la directive 91/414-CEE, la directive OEPP n°170 et les recommandations de l'OCDE pour tester la toxicité des produits chimiques chez l'abeille.

Dans le cadre de notre étude nous avons appliqué la méthode C.E.B. 95, afin de tester l'huile essentielle de la lavande sur les abeilles adultes.

A lessai 2 par contacte on observe qu'au bout de 24h de traitement, les doses D4 et D5 ont donné les taux de mortalités très faible qui sont respectivement de 12.05% et 8.59%. Aucune mortalité n'a été enregistrée pour la dose la plus faible D1.

La DL50 reste impossible à calculer car les taux de mortalité obtenues ne dépassent pas les 50%.

Lors de l'essai par ingestion, la dose D4 a donné le taux de mortalité le plus important qui est de 12.71% au bout de 72h de traitement. Par contre, la dose D5 a donné un taux de mortalité de l'ordre de 3.60%

Pour la dose la plus faible D1, le taux de mortalité corrigé le plus élevé (1.74%) a été Enregistré au bout de 24h après traitement.

Chapitre III résultats et discussion

Les huiles aussi testés réduisent la survie des ouvrières d'A. mellifera. L'extrait d'O. majorana a provoqué une réduction plus importante de la survie des ouvrières d'A. mellifera lorsqu'il a été pulvérisé directement sur elles ou sur les feuilles de soja. Incorporé à la pâte de bonbons, l'extrait de P. granatum a provoqué la plus forte réduction de la survie.

De plus, l'huile essentielle de *O. majorana* a démontré un effet toxique sur les abeilles *A. mellifera*, comme l'ont constaté Gashout et Guzmán-Novoa (2009). Cependant, Ebert, Kevan, Bishop, Kevan et Downer (2007) ainsi que Sabahi, Gashout, Kelly et Guzman-Novoa (2017) n'ont pas observé d'effet des huiles de cette même espèce.

L'extrait de *P. granatum* a réduit la survie des ouvrières *d'A. mellifera* Son utilisation pour contrôler la punaise du bronze a également entraîné une réduction de la survie de l'insecte (Haas et al., 2016).

L'extrait de M. chamomilla a également réduit la survie des ouvrières d'A. mellifera. Une autre étude a signalé un effet toxique chez A. mellifera lors de l'utilisation de l'huile essentielle florale d'Eupatorium buniflorum, appartenant à la même famille des Astéracées (Umpiérrez et al., 2013).

Cependant, Damiani et al. (2011), Mahmood et al. (2014) et Kim, Park et Lee (2016) n'ont pas rapporté de lien entre l'utilisation des extraits éthanoliques de *Baccharis flabellata*, *Aster scaber et Artemisia dubia*, toutes appartenant à la famille des Astéracées, avec une réduction de la longévité ou d'autres effets négatifs sur *A. mellifera*. En revanche, l'extrait de *M. chamomilla* a montré des effets insecticides sur d'autres insectes, notamment la punaise du bronze *T. peregrinus* (Haas et al., 2016). Les principaux composants citriques et acide férulique présents dans l'extrait de *E. grandiflorus* ont réduit la survie *d'A. mellifera*.

Bien qu'une réduction des taux de survie d'A. mellifera causée par E. grandiflorus, O. majorana, P. granatum et M. chamomilla ait été observée, cet effet est légé en comparaison avec l'effet des insecticides chimiques synthétiques sur ces mêmes insectes (Christen et al., 2016; Henry et al., 2012; Thompson et al., 2019). Néanmoins, des études supplémentaires sont recommandées pour vérifier les effets causés dans la ruche et pour vérifier l'action des composés majoritaires sous forme isolée et à différentes concentrations.

De nombreuses huiles essentielles et extraits botaniques utilisés en protection des cultures ont également montré une faible toxicité, voire l'absence de toxicité, pour les abeilles à des doses réalistes sur le terrain (Cunha et al.,2020; Santos et al., 2018]. cependant, plusieurs huiles et extraits, largement utilisés comme bio-pesticides, ont entraîné des effets létaux et sublétaux sur

les larves et les adultes d'abeilles. L'huile d'andiroba (*Carapa guianensis Aublet, Meliaceae*) et l'extrait d'ail (*Allium sativum L., Amaryllidaceae*) ont entraîné une forte mortalité des larves et ont affecté leur développement et leur masse corporelle, tandis que la citronnelle (*Cymbopogon sp., Poaceae*) et l'huile d'eucalyptus (*Eucalyptus sp., Myrtaceae*) ont montré une forte mortalité chez les abeilles adultes (Xavier et al., 2015).

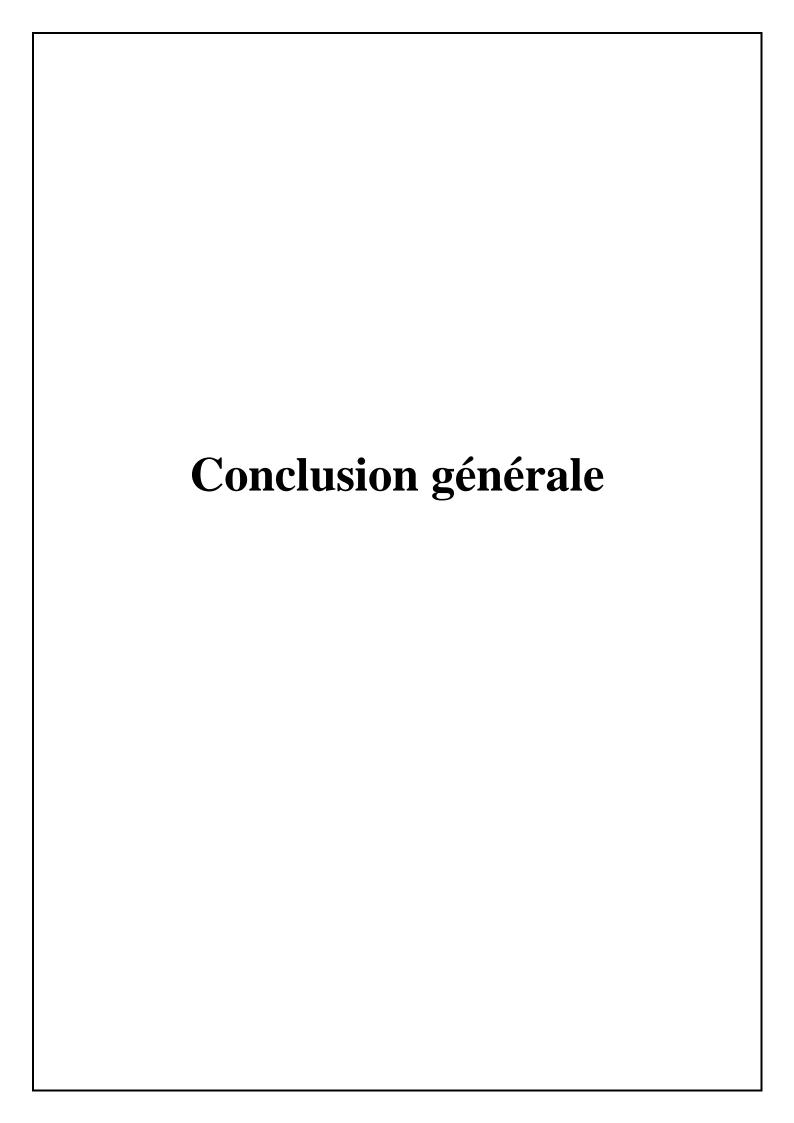
Les huiles essentielles d'Origanum vulgare L. et de Thymus vulgaris L. (Lamiaceae) ont montré une mortalité plus élevée lors des tests topiques et de contact avec des abeilles adultes, et l'huile essentielle d'O. vulgare a également réduit la mobilité des abeilles lors des tests de déplacement (da Silva, 2020). Les traitements par pulvérisation et ingestion d'extraits d'Origanum majorana L. (Lamiaceae), Punica granatum L. (Lythraceae), Echinodorus grandiflorus Micheli (Alismataceae) et Matricaria chamomilla L. (Asteraceae) ont réduit la survie des abeilles, avec une toxicité plus faible pour E. grandiflorus et M. chamomilla (Potrich et al., 2020). L'ingestion d'Origanum majorana et de P. granatum a également réduit les cellules mésentériques de l'intestin moyen des ouvrières (Potriche et al., 2020)

Dans une étude réalisée au Canada, l'application topique et l'ingestion d'huile de neem sur les larves d'abeilles ont entraîné une augmentation de la mortalité à des concentrations élevées (Naumann et al.,1996)

Lors d'une étude en laboratoire et sur le terrain réalisé au Brésil, il a été observé que les extraits botaniques de plante du siècle, de citronnelle, d'ail, de persil, de rue et de tabac avaient des effets répulsifs sur les abeilles domestiques adultes (Efrom et al., 2012).

La toxicité aiguë de l'huile essentiel de la lavande n'a aucun effet toxique sur la santé de l'abeille, nous n'avons pas remarqué des troubles du comportement ou d'autre symptôme si ce n'est que la faiblesse due à la manipulation.

Les huiles essentielles pourraient représenter une alternative aux insecticides de synthèse, et ainsi réduire la pollution de l'environnement (Du Plooy et al., 2009).



Conclusion générale

Conclusion générale

Les abeilles jouent un rôle essentiel dans la pollinisation des cultures et la préservation de la biodiversité. Les pesticides synthétiques peuvent avoir des effets néfastes sur les abeilles et d'autres pollinisateurs, ce qui souligne l'importance d'adopter des alternatives plus sûres et respectueuses de l'environnement. L'utilisation de biopesticides d'origine végétales, représente une alternative respectueuse de l'environnement et de la biodiversité, tout en assurant la protection essentielle des pollinisateurs. Les biopesticides à base des huiles essentielles offrent un moyen durable et écologique de préserver ces précieuses ressources. En adoptant des pratiques agricoles respectueuses des pollinisateurs.

Les résultats de toxicité aigüe nous ont effectivement montré que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* n'a aucun effet néfaste sur les abeilles telliennes lorsqu'elles sont soumises à un contact direct et à une ingestion.

Cependant, il est important de noter que les recherches supplémentaires sont nécessaires pour approfondir notre compréhension de leur impact sur les abeilles, en particulier en ce qui concerne les expositions à plus long terme et les effets sublétaux. Il est également essentiel de souligner que l'évaluation des huiles essentielles, ne doit pas se limiter aux aspects toxicologiques létaux. Il est nécessaire d'étendre les études pour examiner les aspects physiologiques et biochimiques. Cela nous permettra de mieux comprendre les mécanismes d'action des huiles essentielles sur les abeilles et d'évaluer plus précisément leur impact sur la santé et le comportement des abeilles.

bien que les études de laboratoire soient importantes pour évaluer la toxicité potentielle des produits, il est nécessaire de compléter ces études par des études sur le terrain pour obtenir une évaluation plus réaliste des risques pour les abeilles, et pour comprendre les effets à long terme, les interactions complexes et les impacts sur les colonies d'abeilles dans des conditions réelles. Cette approche combinée permettra de prendre des décisions éclairées pour protéger les abeilles et assurer la durabilité des écosystèmes pollinisateurs.

- **1. Abbot WS. (1925)** A method of computing the effectiveness of an insecticides. *J. Econ. Entomol.*. 18:265-267
- **2. Aktar**, M. W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology*, 2(1), 1.
- **3. Anderson,** L.D.; Tuft, T.O. Toxicity of Serveral New Insectisides to Honey Bees. J. Econ. Entomol 1952, 45, 466-469.
- **4. Ali,** S. E., Khan, K. A., & Ahmad, M. (2018). The potential of plant essential oils and their components as and alternatives to pesticides used against the honey bee pathogens and pests. Journal of Essential Oil Research, 30(2), 71-98.
- **5. Al Toufailia,** H. M., Ali, E. H., Alsuhaibani, A. M., & Alzahrani, A. M. (2019). Acute toxicity of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana to the honeybee Apis mellifera and the bumblebee Bombus terrestris (Hymenoptera: Apidae). Chemosphere, 218, 551-556. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.008.
- **6.** Archambault P. 2009- L'abeille, un article de: www.abeez.fr/abeille.html.
- **7. Arnab** De, A., Bose, R., Kumar, A., & Mozumdar, S. (2014). *Targeted delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles* (Vol. 10, pp. 978-81). New Delhi: Springer India
- **8. Bakkali,** F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological Effects of Essential Oils—A Review. Food Chem. Toxicol. 2008, 46,446–475.
- **9. Barascou**, L., Brunet, J.-L., Belzunces, L., Decourtye, A., Henry, M., Fourrier, J., Le Conte, Y., Alaux, C., 2021a. Pesticide risk assessment in honeybees: Toward the use of behavioral and reproductive performances as assessment endpoints. Chemosphere 276, 130134.
- **10. Bonanno,** A., Materia, V. C., Venus, T., & Wesseler, J. (2017). The plant protection products (PPP) sector in the European Union: A special view on herbicides. The European Journal of Development Research, 29, 575-595.
- **11. Bonmatin**, J.M., Bengsch, E., Moineau, L., Lecoublet, S., Colin, M.E., 2001. Analyse de l'imidaclopride dans les pollens, rapport CNRS n° 10 remis au Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris.
- **12. Bonmatin**, J.-M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D.P., Krupke, C., Liess, M., Long, E., Marzaro, M., Mitchell, E.A.D., Noome, D.A., Simon-Delso, N., Tapparo, A., 2015. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 35–67.
- **13. Bonmatin,** J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C., & Simon-Delso, N. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. Environmental Science and Pollution Research, 22(1), 35-67. doi: 10.1007/s11356-014-3332-

- **14. Bonmatin**, **Bonmatin**, J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C., & Simon-Delso, N. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. Environmental Science and Pollution Research, 22(1), 35-67. doi: 10.1007/s11356-014-3332-7
- **15. Bonmatin**, J.M., Moineau, I., Charvet, R., Fleche, C., Colin, M.E., Bengsch, E.R., 2003. A LC/APCIMS/ MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants, and in pollens. Anal. Chem. 75, 2027–2033.
- **16. Brouwer A,** Longnecker MP, Birnbaum LS, Cogliano J, Kostyniak P, Moore J, Schantz S, Winneke G. Characterization of potential endocrine related health effects at lowdose levels of exposure to PCBs. Environ Health Perspect. 1999;107:639.
- **17. Buttler-reepen,** F.1906. Apistica. Beitrage zur systematik, Biologie sowine zur geschichen und geographichen verbre trung des Honigbiene (A.M.L) iher varietaten und derübringen Apis Arten. Mitt-Zool. Museun Berlin, 3.pp. 119-210.
- **18. Casida**, J.E., 2009. Pest toxicology: The primary mechanisms of pesticide action. Chem. Res. Toxicol. 22, 609–619. https://doi.org/10.1021/tx8004949
- **19.** Chauzat, M.-P., Faucon, J.-P., Martel, A.-C., Lachaize, J., Cougoule, N., Aubert, M., 2006. A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in france. J. Econ. Entomol. 99, 253–262
- **20.** Christen, V., Joho, Y., Vogel, M., & Fent, K. (2019). Transcriptional and physiological effects of the pyrethroid deltamethrin and the organophosphate dimethoate in the brain of honey bees (Apis mellifera). *Environmental pollution*, 244, 247-256.
- **21. Clandinin,** D. J., & Connelly, F. M. (1996). Teachers' professional knowledge landscapes: Teacher stories—stories of teachers—school stories—stories of schools. Educational researcher, 25(3), 24-30.
- **22.** Colin, T., Meikle, W.G., Paten, A.M., Barron, A.B., 2019a. Long-term dynamics of honey bee colonies following exposure to chemical stress. Sci. Total Environ. 677, 660–670.
- **23. Colin**, T., Meikle, W.G., Wu, X., Barron, A.B., 2019b. Traces of a neonicotinoid induce precocious foraging and reduce foraging performance in honey bees. Environ. Sci. Technol. 53, 8252–8261. https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02452
- **24.** Crailsheim, K.; Brodschneider, R.; Aupinel, P.; Behrens, D.; Genersch, E.; Vollmann, J.; Riessberger-Gallé, U. Standard methods for artificial rearing of Apis mellifera larvae. J. Apic. Res 2013, 52, 1–16.
- **25. Crisp TM**, Clegg ED, Cooper RL, Wood WP, Anderson DG, Baeteke KP, Hoffmann JL, Morrow MS, Rodier DJ, Schaeffer JE, Touart LW, Zeeman MG, Patel YM. Environmental endocrine disruption: An effects assessment and analysis. *Environ Health Perspect*. 1998;106:11

- **26. Dai,** P.; Jack, C.J.; Mortensen, A.N.; Bloomquist, J.R.; Ellis, J.D. The impacts of chlorothalonil and diflubenzuron on Apis mellifera L. Larvae. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018, 164, 283–288.
- **27.Dai,** P., Jack, C. J., Mortensen, A. N., Bloomquist, J. R., & Ellis, J. D. (2018). The impacts of chlorothalonil and diflubenzuron on Apis mellifera L. larvae reared in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164, 283-288.
- **28.Devillers**, J., & Pham-Delègue, M. H. (Eds.). (2002). *Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals*. CRC Press.
- **29. De Souza**, R.M., Seibert, D., Quesada, H.B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M.R., Bergamasco, R., 2020. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. Process. Saf. Environ. Prot. 135, 22–37. https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035 development of larval honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Environ.
- **30. Ebert,** T. A., Kevan, P. G., Bishop, B. L., Kevan, S. D., & Downer, R. A. (2007). Oral toxicity of essential oils and organic acids fed to honey bees (Apis mellifera). *Journal of Apicultural Research*, 46(4), 220-224.
- 31. E Cassel, RMF Vargas Journal of the Mexican Chemical Society, 2006 scielo.org.mx.
- **32.Efsa**, G. (2008). Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: the role of animal feeding trials. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 46, S2.
- **33. EFSA**, Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR) (2015). Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (Apis mellifera, Bombus spp. and solitary bees). EFSA Journal, 13(6), 4102. doi: 10.2903/j.efsa.2015.4102
- **34. EFSA**, 2012. Scientific Opinion on the science behind the development of a risk assessment of Plant Protection Products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus spp.* and solitary bees). EFSA Journal 10(5), 2668.Entomol. 33, 1151–1154.
- **35. El-Wakeil,** N. E. (2013). Botanical pesticides and their mode of action. Gesunde Pflanzen, 65(4).
- **36. Elgendy,** I. Y., Mahmoud, A. N., Elgendy, A. Y., & Bavry, A. A. (2016). Outcomes with intravascular ultrasound-guided stent implantation: a meta-analysis of randomized trials in the era of drug-eluting stents. Circulation: Cardiovascular Interventions, 9(4), e003700.
- **37. FAO**, (2018). Directives FAO pour les essais de terrain et les méthodes de recherche pour évaluer les effets des pesticides sur les abeilles. http://www.fao.org/3/i9032fr/i9032fr.pdf
- 38. Free, 1957; Gough. 1994, Rafalimana, 2003.
- **39. Gashout,** H. A., & Guzmán-Novoa, E. (2009). Acute toxicity of essential oils and other natural compounds to the parasitic mite, Varroa destructor, and to larval and adult worker honey bees (Apis mellifera L.). *Journal of apicultural research*, 48(4), 263-269.

- **40. Georgiadis**, P., Pistorius, J., Heimbach, U., 2011. Dust in the wind drift of dust containing
- **41. Goulson,** D., Nicholls, E., Botías, C. & Rotheray, E.L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. Science, 347(6229), 1255957.
- **42. Henry,** M., Beguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J.-F., Aupinel, P., ... & Decourtye, A. (2012). A la recherche de la cause de l'effondrement des colonies: une revue des facteurs qui influencent la santé des colonies d'abeilles. Apidologie, 41(3), 363-397. https://doi.org/10.1051/apido/2012055
- **43. Hillier**, N.K., Frost, E.H., Shutler, D., 2013. Fate of dermally applied miticides fluvalinate and amitraz within honey bee (Hymenoptera: Apidae) bodies. J. Econ. Entom. 106, 558–565. insecticides a risk for honey bees (*Apis mellifera* L.)? Nat. Prec.
- **44. Henning**, J., Schnitzler, F. R., Pfeiffer, D. U., & Davies, P. (2005). Influence of weather conditions on fly abundance and its implications for transmission of rabbit haemorrhagic disease virus in the North Island of New Zealand. Medical and Veterinary Entomology, 19(3), 251-262.
- **45. Hurley PM,** Hill RN, Whiting RJ. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumours in rodents. Environ Health Perspect. 1998;106:437
- **46. Isman**, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology, 51, 45-66.
- **47. Isman,** M. B., & Grieneisen, M. L. (2014). Botanical insecticide research: Many publications, limited useful data. Trends in plant science, 19(3), 140-145.
- **48. Jha**, S. N., Narsaiah, K., Basediya, A. L., Sharma, R., Jaiswal, P., Kumar, R., & Bhardwaj, R. (2011). Measurement techniques and application of electrical properties for nondestructive quality evaluation of foods—A review. Journal of food science and technology, 48, 387-411.
- **49. Jia,** Z. Q., Zhang, Y. C., Huang, Q. T., Jones, A. K., Han, Z. J., & Zhao, C. Q. (2020). Acute toxicity, bioconcentration, elimination, action mode and detoxification metabolism of broflanilide in zebrafish, Danio rerio. Journal of hazardous materials, 394, 122521.
- **50. Journ**al of the Mexican ChemicSun, S. H., Chai, G. B., Li, P., Xie, J. P., & Su, Y. (2017). Steam distillation/drop-by-drop extraction with gas chromatography—mass spectrometry for fast determination of volatile components in jujube (Ziziphus jujuba Mill.) extract. Chemistry Central Journal, 11(1), 1-11.al Society, 2006
- **51. Kasim**, N. N., Ismail, S. N. A. S., Masdar, N. D., Hamid, F. A., & Nawawi, W. I. (2014). Extraction and potential of cinnamon essential oil towards repellency and insecticidal activity. *International Journal of Scientific and Research Publications*, *4*(7), 2250-3153.

- **52. 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.
- **53. Lambert**, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., L'Hostis, M., Wiest, L., Buleté, A., Delbac, F., Pouliquen, H., 2013. Widespread occurrence of chemical residues in beehive matrices from apiaries ++located in different landscapes of western France. PLoS ONE 8, e67007.
- **54. Liu,** H., Lu, L., Zhang, M., Yang, K., Wu, X., & Wang, J. (2020). Current research and perspectives of biopesticides. Applied microbiology and biotechnology, 104(17), 7373-7385. doi: 10.1007/s00253-020-10782-w
- **55. Mahmood**, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of pesticides on environment. *Plant, soil and microbes: volume 1: implications in crop science*, 253-269
- **56. Michaud**, A., & Abou Niang, M. (2015). Carte de sensibilité des pollinisateurs au risque d'exposition aux pesticides et aux autres facteurs aggravants.
- **57. Meshram,** S., Bisht, S., & Gogoi, R. (2022). Current development, application and constraints of biopesticides in plant disease management. In *Biopesticides* (pp. 207-224). Woodhead Publishing
- 58. mellifères Damiani, 2009, Gashout et Guzmán-Novoa, 2009, Hýbl, 2021a, Ramzi, 2017
- **59. Mehlhorn,** H., Al-Rasheid, K. A., Al-Quraishy, S., & Abdel-Ghaffar, F. (2012). Research and increase of expertise in arachno-entomology are urgently needed. *Parasitology Research*, *110*, 259-265.
- **60. Mossa,** A.T.H. Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-Pest Management. J. Environ. Sci. Technol. 2016, 9,354–378.
- **61. Motta**, E.V.S., Raymann, K., Moran, N.A., 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 115, 10305–10310.
- **62. Mullin**, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., Pettis, J.S., 2010. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. PLoS ONE 5, e9754.
- **63. Mussen**, E.C., Lopez, J.E., Peng, C.Y.S., 2004. Effects of selected fungicides on growth and organically managed apiaries in South and North Florida. Curr. Inves. Agri. Curr. Res. 7. Quantification of imidacloprid uptake in maize crops. J. Agric. Food Chem. 53, 5336–5341.
- **64. Ohnson,** R. M., Dahlgren, L., Siegfried, B. D., & Ellis, M. D. (2013). Acaricide, fungicide and drug interactions in honey bees (Apis mellifera). PloS One, 8(1), e54092. doi: 10.1371/journal.pone.0054092.

- **65. Plapp,** F. W., & Vinson, S. B. (1977). Comparative toxicities of some insecticides to the tobacco budworm and its ichneumonid parasite, Campoletis sonorensis. *Environmental Entomology*, *6*(3), 381-384.
- **66. Pettis,** J. S., vanEngelsdorp, D., Johnson, J., & Dively, G. (2012). Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen Nosema. Naturwissenschaften, 99(2), 153-158.
- **67. Pilling**, E.D. & Jepson, P.C. (1993). Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (Apis mellifera). Pesticide Science, 39(4), 293-297.
- **68. Qiu,** Y. W., Zeng, E. Y., Qiu, H., Yu, K., & Cai, S. (2017). Bioconcentration of polybrominated diphenyl ethers and organochlorine pesticides in algae is an important contaminant route to higher trophic levels. Science of the Total Environment, 579, 1885-1893.
- **69. Regnault-Roger,** C.; Vincent, C.; Arnason, J.T. Les huiles essentielles dans la lutte contre les insectes : produits à faible risque dans un monde à enjeux élevés. Annu. Rév. Entomol. 2012, 57, 405–424
- **70. R. P. Singh**, S. P. Singh and A. K. Singh, "Active Ingredients of Pesticides," in Pesticides in Crop Protection, Springer, Singapore, 2021, pp. 1-20. doi: 10.1007/978-981-33-6435-7_1.
- **71. Rundlöf,** M., Andersson, G. K. S., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., & Smith, H. G. (2015). Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. Nature, 521(7550), 77-80.
- **72. Sabahi**, Q., Gashout, H., Kelly, P. G., & Guzman-Novoa, E. (2017). Continuous release of oregano oil effectively and safely controls Varroa destructor infestations in honey bee colonies in a northern climate. *Experimental and Applied Acarology*, *72*, 263-275.
- **73. Sanchez-Bayo**, F., Goka, K., 2014. Pesticide Residues and Bees A Risk Assessment. PLoS ONE 9, e94482. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094482
- **74. Sánchez-Bayo**, F., Goulson, D., Pennacchio, F., Nazzi, F., Goka, K., Desneux, N., 2016. Are bee diseases linked to pesticides? A brief review. Environment International 89–90, 7–11.
- **75. Simon-Delso**, N., Martin, G.S., Bruneau, E., Hautier, L., Medrzycki, P., 2017. Toxicity assessment on honey bee larvae of a repeated exposition of a systemic fungicide, boscalid. Bull. Insectology 70, 83–89.
- **76. Shin,** J., & Roh, S. (2019). A study of risk factors for the possible cases of acute occupational pesticide poisoning of orchard farmers in some parts of south Chungcheong province. Annals of occupational and environmental medicine, 31(1).
- **77. Sibul**, I., Ploomi, A., & Voolma, K. (2009). Influence of neem oil on the large pine weevil, Hylobius abietis L.(Coleoptera, Curculionidae). *Baltic forestry*, *15*(2), 255-261.

- **78. Sadhu,** M. J., Bloom, J. S., Day, L., Siegel, J. J., Kosuri, S., & Kruglyak, L. (2018). Highly parallel genome variant engineering with CRISPR—Cas9. *Nature genetics*, *50*(4), 510-514.
- **79.** Suchail, S., Guez, D., Belzunces, L., 2001. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. Environ. Toxicol. Chem. 20, 2482–2486
- **80. The Editors of Encyclopaedia,** Britannica Darshana, Das Melissa, Petruzzello Emily, Rodriguez Kara, Rogers Shiveta Singh
- **81. Tison,** L., Hahn, M. L., Holtz, S., & Rößner, A. (2021). A review of the impact of biocides on non-Apis bees: From individual to colony level effects. Environmental Pollution, 276, 116715. doi: 10.1016/j.envpol.2021.116715.
- **82.** Umpiérrez, M. L., Santos, E., Mendoza, Y., Altesor, P., & Rossini, C. (2013). Essential oil from Eupatorium buniifolium leaves as potential varroacide. *Parasitology research*, *112*, 3389-3400.
- **83.** Wen, X., Ma, C., Sun, M., Wang, Y., Xue, X., Chen, J., Song, W., Li-Byarlay, H., Luo, S., 2021. Pesticide residues in the pollen and nectar of oilseed rape (*Brassica napus* L.) and their potential risks to honey bees. Sci. Total Environ. 786, 147443.
- **84. Williamson,** S. M., & Wright, G. A. (2013). Exposition aux pesticides réduisant les performances de butinage des abeilles et augmentant la mortalité de la colonie. Journal of Applied Ecology, 50(4), 860-870. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12118.
- **85. Wu,** J. Y., Anelli, C. M., & Sheppard, W. S. (2011). Sub-lethal effects of dietary neonicotinoid insecticide exposure on honey bee queen fecundity and colony development. Scientific Reports, 1, 1-6.
- **86. Yadav,** I. C., & Devi, N. L. (2017). Pesticides classification and its impact on human and environment. Environmental science and engineering, 6, 140-158.

Référence bibliographique

Résumé:

Les abeilles jouent un rôle essentiel dans la pollinisation des cultures et la préservation de la biodiversité. Leur déclin a des conséquences significatives sur la production alimentaire mondiale et la santé des écosystèmes. En adoptant des alternatives plus sûres et respectueuses de l'environnement, telles que les biopesticides à base d'huiles essentielles, nous pouvons promouvoir une agriculture durable tout en assurant la protection essentielle des pollinisateurs. Notre expérience sur la toxicité aiguë de huile essentielle de Lavandula stoechas nous ont effectivement montré que n'a aucun effet néfaste sur les abeilles telliennes lorsqu'elles sont soumises à un contact direct et à une ingestion pour les 3 essais, pour La deuxième essai par contact ont montré que les doses D4 et D5 ont entraîné les taux de mortalité les plus élevés, atteignant respectivement 6,81% et 3,41% après 24 heures de traitement. Pour les doses plus faibles, D1 et D2, des taux de mortalité corrigés de 1,71% et 3,41% ont été enregistrés après 72 heures de traitement. En ce qui concerne la toxicité par ingestion, la dose D4 a entraîné un taux de mortalité de 12,71% après 72 heures de traitement, tandis que la dose D5 a enregistré un taux de mortalité de 3,60%. Pour la dose la plus faible, D1, un taux de mortalité corrigé de 1,74% a été observé après 24 heures de traitement. On a remarqué aussi que les symptômes observés chez l'Apis mellifera intermissa suite à l'ingestion ou au contact avec L. stoechas diffèrent de ceux observés avec des substances chimiques telles que les néonicotinoïdes. Ces observations soulèvent différentes causes de mortalité sans l'effet de cette huile.

Mots clés : *Apis mellifera*, Huile essentielle, Toxicité aigüe, DL50.

Abstracts:

Bees play a vital role in pollinating crops and maintaining biodiversity, their decline has significant consequences for global food production and the health of ecosystems.

By using safer and more environmentally friendly alternative such as essential oil-based biopesticides, we can promote sustainable agriculture while providing essential protection for pollinators.

Our experience with the acute toxicity of Lavandula stoechas essential oil has shown that it has no harmful effect on telial bees when subjected to direct contact and ingestion for the 3 tests. The second contact test showed that doses D4 and D5 resulted in the highest mortality rates, reaching 6.81% and 3.41% respectively after 24 hours of treatment.

For the lower doses, D1 and D2, corrected mortality rates of 1.71% and 3.41% were recorded after 72 hours of treatment. In terms of ingestion toxicity, dose D4 resulted in a mortality rate of 12.71% after 72 hours of treatment, while dose D5 recorded a mortality rate of 3.60%. For the lowest dose, D1, a corrected mortality rate of 1.74% was observed after 24 hours of treatment.

It was also noted that the symptoms observed in Apis mellifera intermissa following ingestion or contact with L. stoechas differ from those observed with chemical substances such as neonicotinoids. These observations raise different causes of mortality without the effect of this oil.

Key words: Apis mellifera, Essential oil, Acute toxicity, LD50.

Résumé

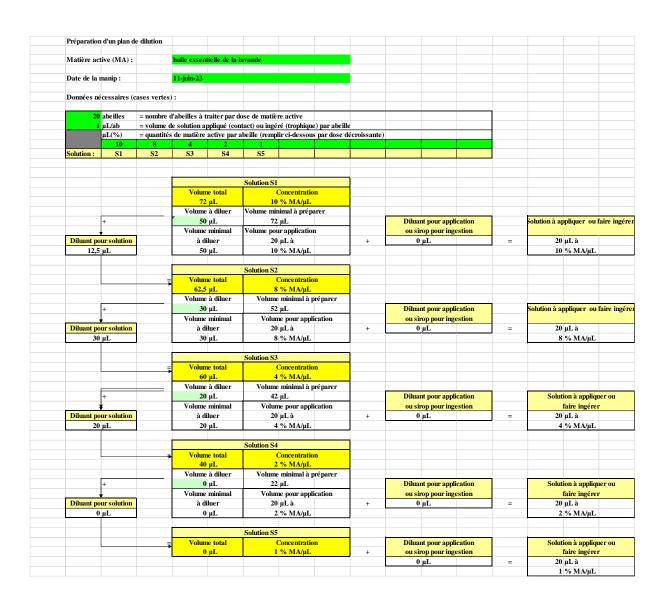
ملخص

يلعب النحل دورًا أساسيًا في تلقيح المحاصيل والحفاظ على التنوع البيولوجي. فتراجعها له عواقب وخيمة على إنتاج الغذاء العالمي وصحة النظام الإيكولوجي. من خلال اعتماد بدائل أكثر أمانًا وصديقة للبيئة، مثل المبيدات الحيوية القائمة على الزيوت الأساسية، يمكننا تعزيز الزراعة المستدامة مع توفير الحماية الأساسية للملقحات. أظهرت تجربتنا حول الأساسي بشكل فعال أنه ليس له أي تأثير سلبي على نحل تيليان عند Lavandula stoechas السمية الحادة لزيت و D4 تعرضه للتلامس المباشر والابتلاع لجميع التجارب الثلاثة، بالنسبة لتجربة الاتصال الثانية، أظهرت أن جرعات أدت إلى أعلى معدلات الوفيات، حيث وصلت إلى 6.81٪ و 3.41٪ على التوالي بعد 24 ساعة من العلاج. بالنسبة من عدلات الوفيات المصححة بنسبة 1.71٪ و 3.41٪ بعد 72 ساعة من 20 و 10 الجرعات المنخفضة، معدل وفيات قدره 12.71٪ بعد 72 ساعة من العلاج. فيما يتعلق بسمية الابتلاع، نتج عن جرعة ، لوحظ معدل وفيات مصحح بنسبة 1.74٪ بعد 11معدل وفيات قدره 3.60٪. بالنسبة لأدنى جرعة، 50 سجلت جرعة بعد الابتلاع أو التلامس 1.74 بعد 24 Apis mellifera intermissa من العلاج. كما لوحظ أن الأعراض التي لوحظت في وتثير هذه الملاحظات neonicotinoids تختلف عن تلك التي لوحظت مع المواد الكيميائية مثل L. stoechas ما مختلفة للوفاة دون تأثير هذا الزيت

.DL50 زيت عطري ، سمية حادة ، Apis mellifera : الكلمات المفتاحية

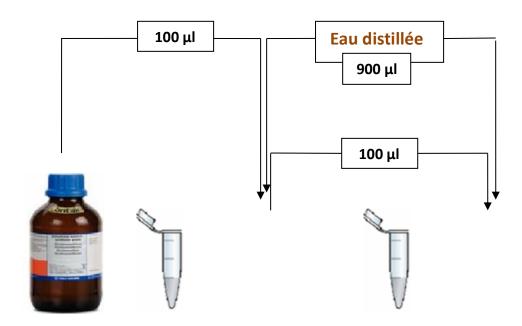
Les Annexes:

Annexes 01:



Résumé

Préparation des solutions :

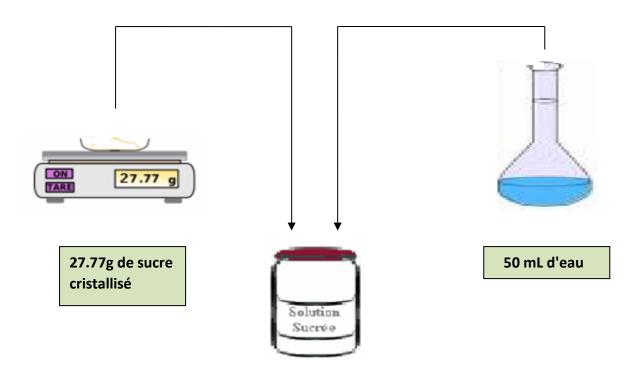


Acétone 100%

Acétone diluée à 10%

Acétone diluée à 1%

Préparation des dilutions d'acétones: 10% et 1%



Préparation de la solution saccharose (solution sucrée)

1-Préparation de la solution mère



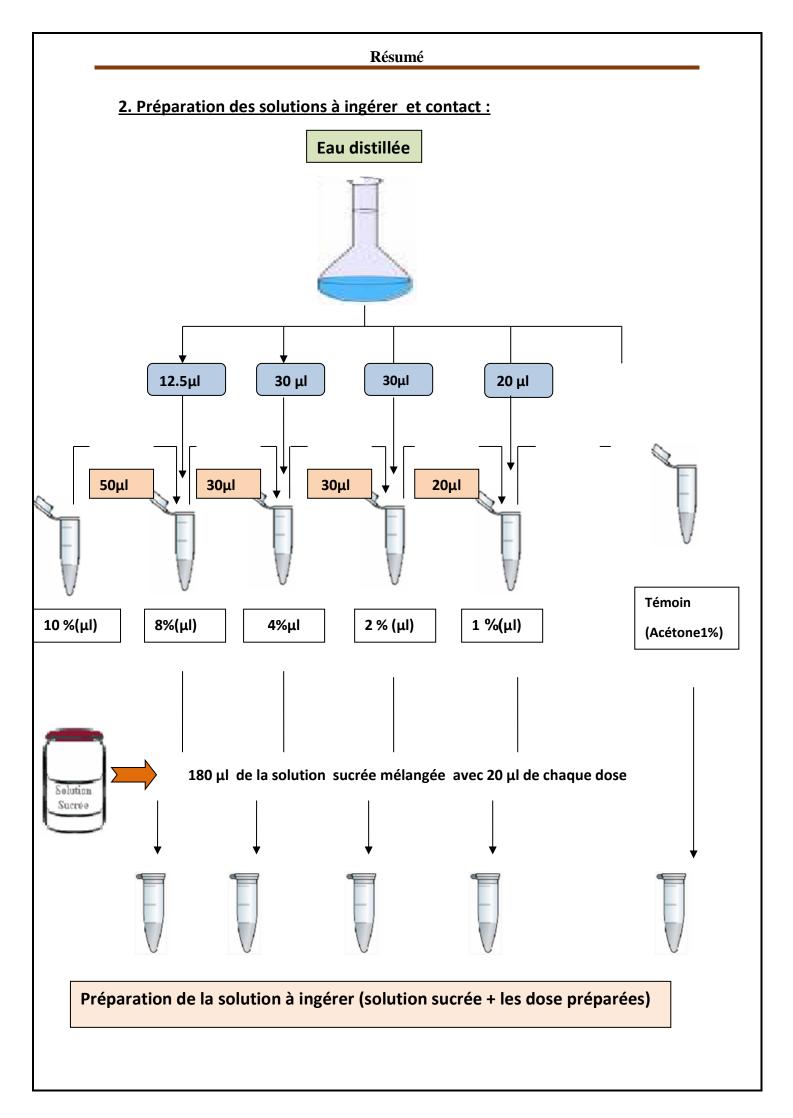
100 μl d'huile essentielle + 900 μl D'Acétone à 10%



Agitation



Solution mère (D 10%)



Annexes 2:

Le tableau 05: Coefficients d'ajustement

54,0000
54,0000
46,0000
0,8837
0,8660
4,0089
2,0022
1,6772

Le R² (coefficient de détermination) est de 88,37%, celui-ci signifie que la variabilité est expliquée en partie par les doses.

Le tableau 10 : Coefficients d'ajustement

Observation	54,0000
Somme des poids	54,0000
DDL	46,0000
R ²	0,5997
R² ajusté	0,5388
MCE	0,4243
RMCE	0,6514
DW	1,1477

Le \mathbb{R}^2 (coefficient de détermination) est de 59,97 %, celui-ci signifie que la variabilité est expliquée en partie par les doses

Résumé

Le tableau 15 : Coefficients d'ajustement

Observation	54,0000
Somme des poids	54,0000
DDL	46,0000
R ²	0,4644
R² ajusté	0,3829
MCE	0,7721
RMCE	0,8787
DW	1,4073

Le R^2 (coefficient de détermination) est de 46,44 %, celui-ci signifie que la variabilité est expliquée en partie par les doses.