

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJI MOKHTAR -ANNABA  
UNIVERSITY  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR  
ANNABA



جامعة باجي مختار - عنابة

Faculté des Sciences

Année : 2024

Département de Biologie

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

*Etude des risques liés à l'utilisation des  
pesticides et impact sur l'environnement et la  
santé humaine « Région El-Tarf »*

Option

Toxicologie Environnementale

Par

M<sup>elle</sup> HAFSI DJAMILA

DIRECTRICE DE THÈSE : Dr. SBARTAI IBTISSEM Prof. UBM- ANNABA

Devant le jury

PRESIDENT:	Dr. BERREBBAH H.	Prof.	U. Badji Mokhtar ANNABA
EXAMINATRICE:	Dr. KIRANE-AMRANI L.	Prof.	U. BADJI MOKHTAR ANNABA
EXAMINATRICE:	Dr KHALDI F.	Prof	U. MESSADIA M.C SOUK- AHRAS
EXAMINATEUR/	Dr. AZIZI N.N..	M.C.A	U. CHADLI BEJEDID -ELTARF





## **Remerciements**

*A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. Effectivement, ce travail n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien inconditionnel d'un grand nombre de personnes dont la générosité et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont aidé à progresser dans cette phase délicate de << l'apprenti-chercheur>>*

*Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de thèse Docteur **Sbartai Ouissem**, Professeure à l'université Badji Mokhtar-Annaba. Je voudrais lui exprimer ma gratitude et ma sympathie pour avoir su m'orienter et me guider sur la bonne voie de la recherche scientifique. Aussi, j'aimerais également témoigner des efforts qu'elle a fournis pour mener à bien cette thèse dans les meilleures conditions possibles ainsi que pour tous le temps qu'elle m'a consacré. Si aujourd'hui, je suis parvenue à achever ma thèse, c'est grâce à son encadrement et ses encouragements, je lui exprime mon admiration pour ses grandes qualités tant scientifiques qu'humaines.*

*Je tiens à remercier **Pr. Berrebbaï Houria**, de l'Université Badji Mokhtar -Annaba-, non seulement pour avoir accepté de présider ce jury, mais aussi et surtout pour l'intérêt et l'attention qu'elle accordera à ce travail*

*J'exprime ma gratitude et mes remerciements aux honorables membres du jury, le Dr. Amrani- Kirane Leïla, Professeure à l'université Badji Mokhtar, le Dr. Khaldi Fadila, Professeure à l'université Mohamed Cherif Messaidia -Souk Ahras, et le Dr. Azizi Nadia Nawel, maître de conférence à l'université Chadli Benjedid, qui m'ont fait l'honneur d'examiner ce travail et pour l'attention qu'ils porteront à l'égard de cette thèse.*

*Je tiens à remercier également et du fond du coeur le Dr. Sbartaï Hana professeur à l'université Badji Mokhtar Annaba pour ses conseils scientifiques si précieux et qui m'ont tant enrichies, j'ai énormément appris à ses côtés, ainsi que pour son soutien moral.*

*Je tiens à remercier tous les responsables et les personnels des laboratoires qui m'ont aidée à réaliser mes expériences, surtout Lynda, Wafa, Sihem, Chahira.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma voisine le Dr. Hadjer pour son aide et gentillesse.*

*Par la même occasion, j'aimerais remercier **Ahcen Drici** président de la commune de Berrichane qui m'a autorisé à terminer ma formation doctorale*

*Je ne saurais terminer sans souligner le soutien chaleureux de **Saci Labadlia** président de la chambre agricole de la wilaya d'El-Tarf qui m'a permis d'acquérir énormément de connaissances dans un domaine qui n'était pas le mien au départ.*

## *Dédicace*

*A la mémoire de mes parents*

*Je dédie cet événement marquant de ma vie*

*A la mémoire de mon très cher père Youcef*

*Ce que je ressens aujourd'hui, je ne pourrai pas le traduire par des mots, tu m'as comblé de ton amour durant la courte vie que nous avons partagée, tu t'es toujours sacrifié pour que je réussisse dans mes études et j'imagine ta fierté et ton bonheur si tu étais présent à mes côtés en ce jour si particulier ;*

*A ma très chère mère à qui je dois tout ;*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*« Que Dieu Leurs accorde sa grâce et sa miséricorde »*

*Reposes en paix, Maman, Papa.*

*A mes sœurs MALIKA, SAIDA et AFEF, Sans vos encouragements, soutiens et amour, je n'aurais jamais pu mener ce travail à terme.*

*A mes chères amies et collègues : Torkia, Samia, Leïla, Lynda, Samira, Yasmine et Selma.*

## SOMMAIRE

**Résumé**

**ملخص**

**Abstract**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

### **INTRODUCTION**

10

### **CHAPITRE I. ETAT DES CONNAISSANCES**

<b>1. Pesticides : Situation et évolution</b>	16
1.1. Définition	16
1.2. Classification	16
1.3. Consommation des pesticides dans le monde	18
1.4. Consommation des pesticides en Algérie	20
1.5. Exposition toxique universelle	21
<b>2. Impacts de l'exposition aux pesticides</b>	23
2.1. Phénomène de dispersion	23
2.2. Voies d'exposition aux pesticides	24
2.3. Impact des pesticides sur l'Homme et son environnement	25
2.3.1. Impact sur l'Homme	25
2.3.2. Impact sur l'environnement	27
2.3.3.1. Impact sur l'écosystème terrestre	27
2.3.3.2. Impact sur l'écosystème aquatique	30
<b>3. Réponse cellulaire et stress oxydant</b>	31
3.1. Stress oxydant : origine et déséquilibre	31
3.2. Espèces oxygénées activées (EOA)	31
3.3. Principales cibles biologiques des EOA	32
3.4. Systèmes de défense	33
3.4.1. Définitions des antioxydants	33
3.4.2. Différents types d'antioxydants	33
3.5. Notion de biomarqueurs	36

## **CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES**

<b>1. Evaluation du risque lié à l'utilisation des pesticides</b>	37
1.1. Position géographique de la zone d'étude	37
1.2. Principales données fournies par la DSA	38
1.3. Déroulement de l'enquête	41
1.3.1. Population de l'étude	41
1.3.2. Le questionnaire	41
<b>2. Evaluation de la toxicité des pesticides ( <i>in vitro</i>) chez deux modèles</b>	42
2.1. Matériel chimique	42
2.2. Matériel biologique	44
2.2.1. Blé dur : <i>Triticum durum</i>	44
2.2.2. Le ver de terre : <i>Aporrectodea Caliginosa</i>	44
2.3. Conduite de l'essai	45
2.4. Paramètres mesurés	50
2.4.1. Paramètres physiologiques	50
2.4.2. Paramètres biochimiques	51
2.5. Analyses statistiques	54

## **CHAPITRE III. RESULTATS**

<b>1. Evaluation du risque lié à l'utilisation des pesticides</b>	56
1.1. Données sociodémographiques	56
1.2. Données relatives à l'emploi des pesticides	61
1.3. Données relatives à la toxicité des produits phytosanitaires	70
<b>2. Evaluation de la toxicité de deux pesticides (in vitro) chez deux modèles biologiques</b>	73
<b>2.1. Invertébrés du sol, cas du ver de terre : <i>Aporrectodea caliginosa</i></b>	73
2.1.1. Effet des différents traitements sur le taux de mortalité et le taux de croissance de <i>Aporrectodea caliginosa</i>	73
2.1.2. Effet des différents traitements sur la variation des teneurs en protéine totale	74
2.1.3. Effet des différents traitements sur la variation des taux de Glutathion (GSH)	75

2.1.4.	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité catalase (CAT)	75
2.1.5.	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité Glutathion S Transférase (GST)	76
2.1.6.	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité Acétyle Choline Estérase (AChE)	77
2.1.7.	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité Lipoxygénase (LOX)	78
<b>2.2.</b>	<b>Plante non cible : cas du blé « <i>Triticum durum</i> »</b>	<b>79</b>
2.2.1.	Effets des différents traitements sur les teneurs en chlorophylles	79
2.2.2.	Effets des différents traitements sur le taux de protéines totales	80
2.2.3.	Effet des différents traitements sur le taux de glutathion (GSH)	81
2.2.4.	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité glutathion S Transférase (GST)	82
2.2.5.	Effet des différents traitements sur l'activité catalase (CAT)	83
2.2.6.	Effet des différents traitements sur l'activité Lipoxygénase (LOX)	83

***CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE***

***CHAPITRE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES*** 100

***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

***ANNEXES***

## Résumé

Ce travail consiste à établir, dans un premier lieu, un diagnostic sur l'utilisation des pesticides à travers la réalisation d'une enquête auprès de 70 agriculteurs répartis sur 7 Daira de la wilaya d'El-Tarf. Cette enquête nous a permis de faire ressortir les pesticides les plus utilisés dans cette région qui se sont révélés être le Prosaro XRT(fongicide) et le Decis EC 25 (insecticide). Nous avons pu également avoir une idée assez claire sur l'utilisation des pesticides dans cette région et de faire un tour d'horizons sur les conditions de travail et les conséquences de cette exposition sur la santé humaine. D'un autre côté, nous avons réalisé une étude in vitro qui consiste en l'évaluation de l'impact de ces deux pesticides (Prosaro et Décis) sur deux modèles biologiques non cibles, le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* ainsi qu'une variété le blé dur *Triticum Durum* Desf, via le suivi de plusieurs paramètres physiologiques (mortalité et croissance pour les vers de terre, Chlorophylles pour le blé) et biochimiques (protéines, glutathion -GSH, activité catalase -CAT et glutathion S-transférase -GST, acétylcholine estérase -AChE, lipoxygénase-LOX). Les résultats obtenus montrent que les pesticides testés n'ont aucun effet sur la survie d'*Aporrectodea caliginosa* mais diminuent leurs taux de croissance et ce en fonction des différents traitements durant toute la période d'exposition (7 et 14 jours). Une augmentation des teneurs en protéines totales ainsi qu'une diminution de l'activité de l'AChE a été rapportée pour tous les traitements. Nous avons également mis en évidence l'installation d'un stress oxydatif après exposition aux xénobiotiques qui est plus prononcé en fin de traitement (après 14 jours), entraînant ainsi l'induction du système antioxydant (GSH, GST, CAT) et des LOX. Parallèlement, une perturbation de la fonction photosynthétique a été observée chez les feuilles de *Triticum durum* exposées aux différents traitements après 7 et 14 jours. Aussi, une diminution des teneurs en GSH et une stimulation de la synthèse des protéines totales ont été observées ainsi qu'une induction de l'activité CAT, GST et LOX et ce pour les deux compartiments racines et feuilles. Il s'avère ainsi que les concentrations utilisées en plein champ ne sont pas nocives pour les espèces étudiées mais génèrent tout de même des radicaux libres qui sont pris en charge par le système de défense de ces organismes d'où la stimulation de ce dernier lui permettant ainsi de faire face à ces conditions.

**Mots clés :** Toxicité, Pesticides, *Aporrectodea caliginosa*, *Triticum Durum*, Stress oxydant, biomarqueurs de stress.

## ملخص

ويتكون هذا العمل أولاً من تشخيص استخدام المبيدات من خلال إجراء مسح لـ 70 فلاحاً موزعين على 7 ديرات بولاية الطارف. أتاح لنا هذا الاستطلاع تسليط الضوء على المبيدات الحشرية الأكثر استخداماً في هذه المنطقة والتي تبين أنها Prosaro XRT (مبيد للفطريات) و Decis EC 25 (مبيد حشري). كما تمكنا من الحصول على فكرة واضحة إلى حد ما عن استخدام المبيدات الحشرية في هذه المنطقة وإلقاء نظرة عامة على ظروف العمل وعواقب هذا التعرض على صحة الإنسان. من ناحية أخرى، أجرينا دراسة مخبرية تتكون من تقييم تأثير هذين المبيدين (Prosaro و Décis) على نموذجين بيولوجيين غير مستهدفين، وهما دودة الأرض *Aporrectodea caliginosa* بالإضافة إلى صنف من القمح القاسي *Triticum Durum Desf*، من خلال مراقبة العديد من العوامل الفسيولوجية (الوفيات والنمو لديدان الأرض، الكلوروفيل للقمح) والمعلومات البيوكيميائية (البروتينات، الجلوتاثيون-GSH، نشاط الكاتلاز-CAT والجلوتاثيون-S-ترانسفيراز-GST، أستيل كولين استريز-AChE، ليبوكسيجيناز-LOX). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المبيدات التي تم اختبارها ليس لها أي تأثير على بقاء *Apporectodea caliginosa* ولكنها تقلل من معدلات نموها اعتماداً على المعاملات المختلفة طوال فترة التعرض (7 و 14 يوماً). تم الإبلاغ عن زيادة في إجمالي محتويات البروتين بالإضافة إلى انخفاض في نشاط AChE في جميع المعالجات. أظهرنا أيضاً تركيب الإجهاد التأكسدي بعد التعرض للأجانب الحيوية والذي يكون أكثر وضوحاً في نهاية العلاج (بعد 14 يوماً)، مما يؤدي إلى تحفيز نظام مضادات الأكسدة (GSH، GST، CAT و LOX). وفي الوقت نفسه، لوحظ خلل في وظيفة التمثيل الضوئي في أوراق نبات *Triticum durum* المعرضة للمعاملات المختلفة بعد 7 و 14 يوماً. كما لوحظ انخفاض في مستويات GSH وتحفيز تخليق البروتين الكلي بالإضافة إلى تحفيز نشاط CAT و GST و LOX لكل من أجزاء الجذر والأوراق. وهكذا يتبين أن التركيزات المستخدمة في الحقول المفتوحة ليست ضارة بالأنواع التي تمت دراستها ولكنها لا تزال تولد جذوراً حرة يعتني بها النظام الدفاعي لهذه الكائنات، وبالتالي تحفيز هذه الأخيرة مما يجعل من الممكن التغلب عليها مع هذه الشروط.

**الكلمات المفتاحية:** السمية، المبيدات الحشرية، *Aporrectodea caliginosa*، *Triticum Durum*، الإجهاد التأكسدي، المؤشرات الحيوية للإجهاد.

## Abstract

This work consists of establishing, firstly, a diagnosis on the use of pesticides through carrying out a survey of 70 farmers spread over 7 Daira in the wilaya of El-Tarf. This survey allowed us to highlight the most used pesticides in this region which turned out to be Prosaro XRT (fungicide) and Decis EC 25 (insecticide). We were also able to have a fairly clear idea of the use of pesticides in this region and to take an overview of the working conditions and the consequences of this exposure on human health. On the other hand, we carried out an in vitro study which consists of evaluating the impact of these two pesticides (Prosaro and Décis) on two non-target biological models, the earthworm *Aporrectodea caliginosa* as well as a variety durum wheat *Triticum Durum Desf*, via the monitoring of several physiological parameters (mortality and growth for earthworms, chlorophylls for wheat) and biochemical parameters (proteins, glutathione -GSH, catalase activity -CAT and glutathione S-transferase -GST, acetylcholine esterase -AChE, lipoxygenase-LOX). The results obtained show that the pesticides tested have no effect on the survival of *Aporrectodea caliginosa* but reduce their growth rates depending on the different treatments throughout the exposure period (7 and 14 days). An increase in total protein contents as well as a decrease in AChE activity was reported for all treatments. We also demonstrated the installation of oxidative stress after exposure to xenobiotics which is more pronounced at the end of treatment (after 14 days), thus leading to the induction of the antioxidant system (GSH, GST, CAT) and LOX. . At the same time, a disruption of photosynthetic function was observed in *Triticum durum* leaves exposed to the different treatments after 7 and 14 days. Also, a reduction in GSH levels and a stimulation of total protein synthesis were observed as well as an induction of CAT, GST and LOX activity for both root and leaf compartments. It thus turns out that the concentrations used in the open field are not harmful to the species studied but still generate free radicals which are taken care of by the defense system of these organisms, hence the stimulation of the latter. thus making it possible to cope with these conditions.

**Key words:** Toxicity, Fungicide, Insecticide, *Triticum Durum* *Aporrectodea caliginosa*, Oxidative stress, stress biomarkers .

## Liste des figures

<b>N°</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Classification des pesticides	<b>17</b>
<b>2</b>	Pesticides consommés par continent en 2020 (Atlas des pesticides, 2023)	<b>18</b>
<b>3</b>	Nombre de produits encore utilisés en 2021 (Atlas des pesticides, 2023)	<b>19</b>
<b>4</b>	Nombre annuel d'intoxications aux pesticides dans le monde (Atlas des pesticides, 2023)	<b>21</b>
<b>5</b>	Devenir des pesticides dans l'environnement (Rapport d'expertise INRA-CEMAGREF, 2005)	<b>24</b>
<b>6</b>	Carte géographique d'Eltarf	<b>38</b>
<b>7</b>	Structure moléculaire de la Deltamethrine	<b>42</b>
<b>8</b>	Structure plane du prothioconazole (a) et tébuconazole (b)	<b>43</b>
<b>9</b>	Préparation du semis	<b>45</b>
<b>10</b>	Application du stress	<b>46</b>
<b>11</b>	Récolte des vers de terre	<b>46</b>
<b>12</b>	Deuxième tri des vers de terre	<b>47</b>
<b>13</b>	Ver de terre sélectionné	<b>48</b>
<b>14</b>	Mise en boîte	<b>48</b>
<b>15</b>	Préparation des terrariums	<b>49</b>
<b>16</b>	Pesée et vérification de mortalité	<b>51</b>
<b>17</b>	Dissection des vers de terre pour les dosages	<b>51</b>
<b>18</b>	Répartition des agriculteurs selon la classe d'âge	<b>56</b>
<b>19</b>	Répartition des agriculteurs selon le niveau d'étude	<b>57</b>
<b>20</b>	Répartition des agriculteurs selon l'ancienneté	<b>58</b>
<b>21</b>	Répartition des agriculteurs selon leurs statuts	<b>58</b>
<b>22</b>	Répartition des agriculteurs selon la culture	<b>59</b>
<b>23</b>	Répartition des agriculteurs selon l'état de fumer	<b>60</b>
<b>24</b>	Répartition des agriculteurs selon leurs états de santé	<b>60</b>
<b>25</b>	Maladies rencontrées dans les parcelles	<b>61</b>
<b>26</b>	Répartition des agriculteurs selon l'utilisation des pesticides	<b>62</b>
<b>27</b>	Répartition des agriculteurs selon le choix du pesticide	<b>63</b>

<b>28</b>	Répartition des agriculteurs selon le respect de la lecture d'étiquette	<b>64</b>
<b>29</b>	Répartition des agriculteurs selon le port des EPI	<b>64</b>
<b>30</b>	Répartition des agriculteurs selon le respect des règles d'hygiène	<b>65</b>
<b>31</b>	Répartition des agriculteurs selon le respect des délais de rentrée à la parcelle	<b>66</b>
<b>32</b>	Répartition des agriculteurs selon le respect des règles de contamination et de stockage	<b>66</b>
<b>33</b>	Répartition des agriculteurs selon les moyens d'utilisation lors d'application des pesticides	<b>67</b>
<b>34</b>	Répartition des agriculteurs selon la durée d'exposition	<b>68</b>
<b>35</b>	Répartition des agriculteurs selon le respect de la dose	<b>68</b>
<b>36</b>	Quantité de pesticides utilisés (%)	<b>69</b>
<b>37</b>	Répartition des agriculteurs selon la réduction de l'utilisation des pesticides	<b>70</b>
<b>38</b>	Répartition des agriculteurs selon leurs connaissances des risques	<b>71</b>
<b>39</b>	Effets indésirables rencontrés chez les agriculteurs	<b>72</b>
<b>40</b>	Effet des différents traitements sur le taux de croissance d' <i>Aporrectodea caliginosa</i> .	<b>73</b>
<b>41</b>	Effet des différents traitements sur la variation des teneurs en protéines.	<b>74</b>
<b>42</b>	Effet des différents traitements sur la variation des taux de GSH.	<b>75</b>
<b>43</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité CAT.	<b>76</b>
<b>44</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité GST.	<b>77</b>
<b>45</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité AchE.	<b>77</b>
<b>46</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité LOX.	<b>78</b>
<b>47</b>	Effet des différents traitements sur la variation du taux de protéines totales chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé.	<b>80</b>
<b>48</b>	Effet des différents traitements sur le taux de GSH chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé.	<b>81</b>
<b>49</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité GST chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé.	<b>82</b>
<b>50</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité CAT chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé	<b>83</b>
<b>51</b>	Effet des différents traitements sur la variation de l'activité LOX chez les feuilles	<b>84</b>

(a) et les racines (b) de blé.

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>Page</b>
1	Principaux indicateurs de la Wilaya	38
2	Production de la wilaya 2018 (pré bilan)	39
3	Surface agricole totale et utile par Daïra en Hectare	39
4	Surface agricole totale et utile par commune en Hectare	39
5	Classement de la wilaya par filière	40
6	Concentrations utilisées pour les vers de terre	43
7	Concentrations utilisées pour le blé	43
8	Classification d' <i>Aporrectodea Cliginosa</i>	44
9	Les pesticides les plus utilisés par culture	62
10	Variation des teneurs en chlorophylles chez les feuilles de blé traités par les différents traitements	79

## Liste des abréviations

- **•OH** hydroxyle
- **AA** Acide arachidonique
- **ACh** : acétylcholine
- **AchE** Acétylcholine Estérase,
- **ADN** Acide désoxyribonucléique
- **AELE** Association Européenne de libre-Echange
- **AGPI** Acides gras polyinsaturés
- **ANOVA** : Analysis of variance
- **BSA** Albumine Sérum bovine
- **CaCO<sub>3</sub>** Bicarbonate de calcium
- **CAT** Catalase
- **CDNB** 1-chloro 2, 4 dinitrobenzène
- **CF** Formulations commerciales
- **CIRC** Centre international de recherche sur le cancer
- **CL50** Concentration létale 50 %
- **CTL** Cytotoxic T Lymphocytes
- **DDT** insecticide interdit depuis longtemps
- **DL50** Dose létale 50%
- **DMSE** Dose maximale sans effet
- **DSA** Direction du Service Agricole
- **DTNB** : 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acide)
- **EDTA** : Ethylene diamine tétra-acétique
- **EOA** Espèces oxygénées activées
- **EPI** Equipement de protection individuelle
- **FAO** Food and Agriculture Organization
- **FSH** Hormone de stimulation folliculaire
- **GPX** : Glutathion Peroxydase
- **GR** : Glutathion Réductase.
- **GSH** Glutathion
- **GSSG**: Disulfure de Glutathion
- **GST** Glutathion S-transférase,
- **HHP** :Hardly Hazardous Pesticides
- **IA** Index algérien
- **INPV** : Institut National de la protection des végétaux
- **LAK** Lymphokine Activated Killer
- **LDL** Lipoprotéine de basse densité

- **LH** Hormone lutéinisante
- **LNA** Acide linoléique
- **LOX** Lipoxygénases
- **LTC** Laboratoire de Toxicologie Cellulaire
- **Mn** manganèse
- **MT** métallothionéines
- **Na** : canal sodium
- **Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** Metabisulfite de sodium
- **nAChR** : récepteur cholinergique de type nicotinique
- **NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
- **NK** Natural killer
- O<sub>2</sub><sup>1</sup> Oxygène singulet
- **OAIC** Office Algérienne Interprofessionnelle des céréales
- **OCDE** organisation de coopération et du développement économique
- **OMS** Organisation mondiale de la santé
- **PNG** : Production National Globale
- **PTC** Prothioconazole
- **ROO•** radical peroxyde
- **ROS** Espèces réactives de l'oxygène
- **SAT** Surface Agricole Total
- **SAU** Surface agricole utile
- **SH** Groupements thiol
- **SOD** superoxyde dismutase
- **TBA** : Thiobarbiturique
- **TCA** : Acide Trichloroacétique
- **TEB** Tébuconazole
- **TNB** Acide 5-thio-2 nitrobenzoïque
- **ΔA** : Différence moyenne de l'absorbance.

**ε** : Coefficient d'extinction linéique molaire en M

# ***INTRODUCTION***

Les activités anthropiques induisent des pollutions chimiques environnementales diversifiées (**Rhind, 2009**) impliquant de nombreuses molécules structurellement et fonctionnellement différentes, dont certaines sont toxiques (**Frankart et al., 2002**) et qui peuvent se retrouver à différentes concentrations dans les multiples niveaux de l'environnement comprenant des substances de nature variées telles que des hydrocarbures aromatiques polycycliques, des résidus médicamenteux ou même des pesticides...etc (**Serra et al., 2016**).

Certaines politiques visant à accroître la production agricole sont appliquées pour répondre aux demandes croissantes de nourriture d'une population mondiale qui ne cesse d'augmenter. L'emploi des pesticides pour éliminer les ravageurs représente l'une des pratiques agricoles les plus utilisées qui s'est avérée une stratégie avantageuse pour améliorer la production des récoltes (**Slimani et al., 2011**). Cependant, l'exposition chronique aux pesticides peut nuire à la santé humaine en provoquant des effets/maladies aiguës et/ou chroniques (**Hamsan et al., 2017, Jacobsen-Pereira et al., 2018**). D'innombrables recherches scientifiques ont mis en évidence l'impact des pesticides agricoles sur la santé des agriculteurs comme celles de **Lander et al., (2000), Stallones et Beseler (2002), Calvert et al., (2008), Mamane et al., (2015), Sonchieu et al., (2017), Buralli et al., (2018), Jacobsen-Pereira et al., (2018), Juntarawijit et Juntarawijit (2018), Patel & Sangeeta (2019)**. Selon **Blair et al., (2015)**, la nature des produits chimiques spécifiques ainsi que les effets sur la santé sont pris en compte pour la détermination de la nocivité des pesticides pour l'homme. En effet, tous les pesticides n'ont pas la même puissance et ne peuvent pas non plus causer le même type ou niveau de menace pour la santé humaine (**Gilden et al., 2010**).

Il est connu que les insecticides et les fongicides sont utilisés efficacement dans la lutte contre les principales maladies et ravageurs des plantes cultivées, nécessaires au maintien, voire à l'augmentation des rendements agricoles. Cependant, la plupart de ces molécules sont hautement toxiques et difficiles à biodégrader. Leur utilisation massive et répétée peut avoir des conséquences néfastes sur toutes les composantes de l'environnement (**Hafez et al., 2020**).

Parmi eux figurent les pyréthroïdes qui constituent une classe d'insecticides apparue ces dernières années pour remplacer les organophosphorés et les organochlorés (**Horton et al., 2011 ; Saillenfait et al., 2015**) et dont l'utilisation, qui ne cesse d'augmenter, est devenue le choix préféré des agriculteurs (**Kumar et al., 2016 ; Nieradko- Iwanicka & Borzecki, 2015**). Ces derniers présentent une toxicité plus élevée grâce à leur caractère lipophile leur permettant de s'accumuler dans les tissus graisseux. Au cours de la métabolisation, ils sont capables de générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui peuvent altérer ainsi l'intégrité et le fonctionnement cellulaire et de ses organites, notamment les mitochondries qui produisent davantage de ROS susceptibles de produire un déséquilibre du statut redox provoquant un trouble respiratoire, voire une apoptose ou une nécrose (**Ambolet-camoit et al., 2012 ; Hossain et al., 2014**).

L'Algérie fait partie des pays qui utilisent de grandes quantités de pesticides, avec 30 000 tonnes appliquées chaque année (**Chiali et al., 2013**). Parmi les 400 produits phytosanitaires agréés, seul une quarantaine sont largement employés en agriculture (**Bordjiba et al., 2009**). Parmi les pyréthrinoïdes, la deltaméthrine est la plus utilisée pour protéger les cultures céréalières contre les ravageurs (**TianhuiJiaoa et al., 2021**). L'utilisation fréquente de cette molécule augmente le risque de contamination chez l'homme par inhalation de particules en suspension ainsi que par ingestion (**Saillenfait et al., 2015**). Un certain nombre d'études ont démontré que la deltaméthrine provoque divers effets toxiques ; une neurotoxicité et un dysfonctionnement hépatique chez les rats accompagnés de niveaux élevés de ROS (**Ding et al., 2017**) ainsi que d'une peroxydation lipidique des membranes cellulaires des cellules hépatiques (**Tuzman et al., 2008**).

D'un autre côté, et parmi les fongicides les plus utilisés, on retrouve les triazoles, qui constituent une famille bien connue, ayant une action à la fois préventive et dans une certaine mesure curative. Au niveau systémique, les effets toxiques des triazoles entraînent un déséquilibre hormonal (**Yang et al., 2014**), des taux de germination plus faibles, une altération de la croissance et du développement racinaire (**Serra et al., 2013, 2015**) ainsi que l'apparition d'anomalies chromosomiques (**Wandscheer et al., 2017**).

L'évaluation des risques écologiques réalisée par **Wang et al. (2011)** a montré la persistance prolongée dans l'environnement des fongicides triazoles, en raison de leur faible volatilité, de leur faible biodégradabilité et de leur haute stabilité chimique et photochimique. Le tébuconazole (TEB) et le prothioconazole (PTC) sont les deux ingrédients actifs qui composent le Prosaro XRT. En effet, le TEB est un fongicide réputé persistant et produit des résidus persistants dans les sédiments (**EFSA, 2008 ; Smalling et al., 2013**) et dans le sol où sa demi-vie d'élimination a été estimée à environ 800 jours (**US Environmental Protection Agency, 2014**). Il a été rapporté que le TEB pourrait affecter les organismes non ciblés. Cela provoquerait des perturbations de la glande thyroïde chez les organismes aquatiques (**Yu et al., 2013 ; Li et al., 2019b**), une altération de l'ADN (**Castro et al., 2018**), un ralentissement de la croissance et du développement (**Bernabò et al., 2016 ; Li et al., 2019a**), une atteinte des cellules hépatiques (**Schmidt et al., 2016 ; Knebel et al., 2019**) ainsi que la dégradation des systèmes nerveux (**Altenhofen et al., 2017**) et reproducteurs (**Sancho et al., 2016; Li et al., 2019a**). D'autre part, le prothioconazole (PTC) est un fongicide à large spectre très efficace (**Casida et Bryant, 2017**) qui se dégrade facilement. Des études ont confirmé que le PTC exerce des effets néfastes sur diverses espèces, notamment les organismes aquatiques et les mammifères (**Xin Bao et al., 2023**). **Sun et al., (2020)** ont indiqué que le PTC induisait des anomalies développementales et morphologiques chez le poisson zèbre traité, des anomalies cardiovasculaires, des dommages oxydatifs et des troubles métaboliques chez l'embryon (**Tian et al., 2019 ; Sun et al., 2020**).

D'innombrables recherches ont été menées dans le but d'évaluer la toxicité des produits phytochimiques sur des lombriciens notamment sur les vers de terre (**Schreck et al., 2008, Stepic' et al., 2013, Pelosi et al., 2013, Bart et al., 2018, 2019**), ces organismes ont été largement exploités dans la bio-indication de la qualité des sols et de l'environnement (**Cortet et al., 1999 ; Paoletti, 1999**). Du fait que plusieurs espèces de vers de terre sont faciles à collecter et à identifier avec une reproduction facile (**Lowe et Bout 2005 ; Yasmin et D'Souza 2007**), ils ont donc été adoptée par la communauté internationale comme espèce sentinelle pour l'étude de l'impact environnemental des contaminants anthropiques, tels que les pesticides, hydrocarbures et les éléments traces métalliques (**Edwards et Bohlen 1996 ;Piarce et al, 2002 ; Spurgeon et al., 2003 ; Seeber et al., 2005 ; Kautenburger, 2006**). Parallèlement, les plantes terrestres, de par leur caractère sessile, sont continuellement soumises à des fluctuations environnementales et à différents stress (biotiques et abiotiques).

Les contaminations par les xénobiotiques, et en particulier par les pesticides, font partie intégrante de ces contraintes chimiques abiotiques. Ces xénobiotiques peuvent en effet affecter la survie, le développement et la reproduction des végétaux, et induire à plus grande échelle des changements dans les communautés végétales avec des impacts écologiques et agronomiques importants (**Helander *et al.*, 2012**).

Ainsi, cette étude vise à évaluer la toxicité de deux pesticides : Prosaro (Tebuconazole + Prothioconazole) et Decis EC 25 (deltaméthrine), fréquemment utilisés en agriculture notamment dans la région d'El-tarf, ainsi que leurs associations aux doses recommandées en plein champ chez un modèle non ciblé bioindicateur représentatif des écosystèmes terrestres : *Aporrectodea caliginosa*., ainsi que chez une variété de blé dur *Triticum durum*. La toxicité a été évaluée grâce à la surveillance de certains biomarqueurs de stress (acétylcholinestérase, catalase, glutathion S-transférase, glutathion, lipoxigénases), afin de confirmer si ces doses ne sont vraiment pas nocives et n'affectent pas ces espèces et ainsi mettre en évidence la capacité de ces organismes à tolérer les conditions de stress représentées par nos pesticides. La problématique abordée dans cette étude est répartie comme suit :

- **Le premier volet** est dédié à établir un diagnostic sur l'utilisation des pesticides dans la région d'EL Tarf afin de mettre en exergue le degré de conscience des agriculteurs envers la dangerosité de l'utilisation de ces produits et ce à travers la vérification de certains comportements tels que le respect des conditions d'emploi, le respect des doses, le respect des délais de réintroduction dans les parcelles...etc, et évaluer également leur niveau de connaissance des risques liés à cette utilisation et enfin essayer d'établir un lien de causalité entre les pesticides et l'apparition de certaines maladies.
  
- **Le deuxième volet** est consacré aux expérimentations réalisées sur l'impact de deux pesticides Prosaro XRT et Decis EC 25 et leurs traitements combinés sur deux modèles biologiques : un modèle animal le vers de terre, espèce bio indicatrice de la pollution du sol, et un modèle végétal le blé dur *Triticum durum* en utilisant différentes techniques d'évaluation de l'effet toxique à savoir :
  - ❖ Mettre en exergue l'effet des deux pesticides Prosaro XRT et Decis EC25 sur les deux modèles biologiques choisies à travers le suivi de la variation de certains biomarqueurs impliqués dans les systèmes de défense cellulaire et qui

peuvent nous renseigner sur l'intensité du stress oxydatif installé suite à l'exposition à ces xénobiotiques.

- ❖ Cette évaluation est réalisée via le dosage de quelques paramètres physiologiques (Taux de mortalité et de croissance pour les lombriciens et les teneurs en chlorophylle pour le blé) et biochimiques (teneurs en protéines totales, taux de glutathion 'GSH', activité catalase 'CAT', activité glutathion S-transférase 'GST', activité lipoxigénase 'Lox').
  - ❖ Evaluer l'impact de ces deux molécules sur le système nerveux des vers de terre à travers le suivi de l'activité Acétylcholine Estérase (AChE) afin de mettre en avant leur neurotoxicité.
- Pour finir une conclusion vient synthétiser tous les résultats obtenus tout en faisant ressortir les points forts de cette étude suivie par des perspectives suggérées pour des travaux futurs.

# ***CHAPITRE I.***

## ***ETAT DES CONNAISSANCES***

## **I. Pesticides : Situation et Evolution**

### **1.1. Définitions**

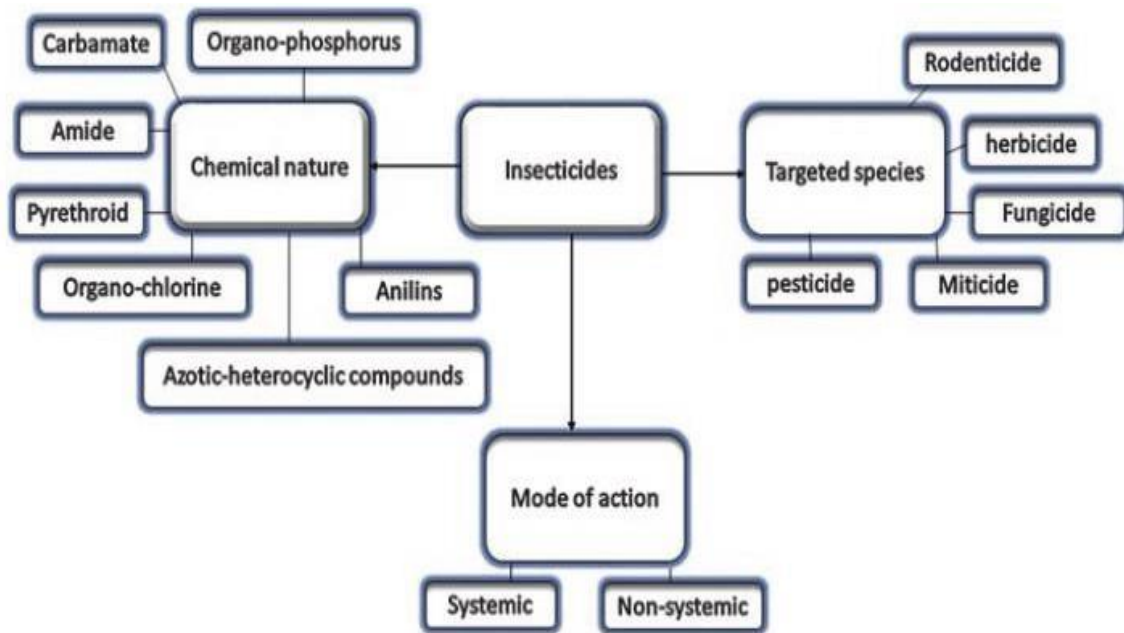
Ce terme de "pesticides" est une appellation générique qui englobe toutes les substances (molécules) ou produits (formulations) qui éliminent les ravageurs qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. Ils sont employés pour repousser, détruire ou combattre les ravageurs. Selon leur cible, il s'agit essentiellement d'herbicides, fongicides et insecticides (ANSES, 2010). La substance qui détruit ou empêche les organismes nuisibles de s'installer sur les végétaux est dénommée substance active (anciennement dénommée matière active), à laquelle sont rajoutées dans la préparation un certain nombre de «formulants» (mouillants, solvants, anti-mousses, ...) qui la rendent utilisable par l'agriculteur (ACTA, 2005).

En fonction de la catégorie à laquelle ils appartiennent, les pesticides obéissent à des réglementations différentes. Ils peuvent donc être utilisés pour protéger les végétaux par l'agriculteur mais peuvent également être utilisés par les particuliers pour les jardins ou par d'autres acteurs comme les collectivités pour l'entretien des voiries et des espaces verts.

### **1.2. Classification**

Actuellement, les pesticides disponibles sur le marché sont caractérisés par une diversité de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité rendant leur classification très complexe. Ces substances englobent plus de 80 classes chimiques ou familles avec différentes propriétés. Elles peuvent cibler plusieurs nuisibles à la fois par exemple ils peuvent être herbicides et insecticides au même temps. Quelques substances sont formulées à partir d'un mélange de plusieurs molécules actives auxquelles sont rajoutés des adjuvants (solvants ou conservateurs) qui visent à renforcer l'action des matières actives (Gognez N., 2020).

Généralement, il existe 3 grandes familles qu'on peut classer selon le type de parasite à éliminer, il s'agit des Herbicides, Fongicides et Insecticides. On peut rajouter également d'autres produits comme les acaricides, les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscides (contre les limaces et escargots), les corvicides et corvifuges (contre les oiseaux ravageurs des cultures notamment les corbeaux) et enfin les répulsifs.



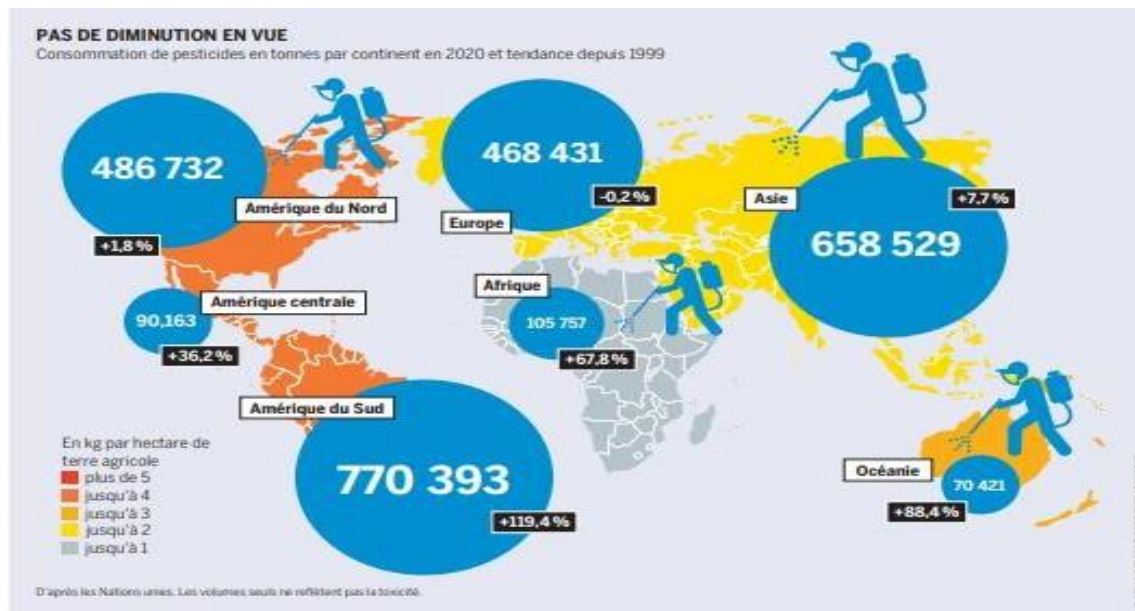
**Figure 1. Classification des pesticides (Kamal et al., 2021)**

Une autre classification existe et qui est réalisée selon la nature chimique de la matière active majoritaire qui compose les pesticides. Il s'agit donc des Organochlorés, des Organophosphorés, des Pyrétrinoïdes, ses Carbamates, des Triazines et des Urées substituées (Calvet et al., 2005; Frery et al., 2010).

### 1.3. Consommation des pesticides dans le Monde

D'après les rapports établis par l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), une augmentation régulière des quantités de pesticide utilisées dans le monde est observée et ce depuis les années 1990. Cette intensification de l'agriculture est liée principalement à l'explosion démographique mondiale dans les années 1960 et a été initiée lors de la révolution verte en réponse à une crise alimentaire (FAO, 2016). Le marché international des produits phytosanitaires est en perpétuelle expansion et seul quelques firmes se le partagent. Elles investissent de plus en plus dans les pays du sud (moins développés) où la réglementation est moins stricte (Atlas des pesticides, 2023).

En se basant sur les données de «**FAOSTAT (2020)**», environ 4.113.513 tonnes (t) de pesticides ont été utilisés en agriculture dans le monde au cours de l'année 2015. La Chine et les États-Unis se placent en première position avec une consommation de 1.772.421 et 407.779 t de produits agrochimiques (**FAOSTAT, 2020**).



**Figure 2. Pesticides consommés par continent en 2020**  
(Atlas des pesticides, 2023)

*L'Amérique du Sud et l'Afrique sont parmi les continent qui affichent un taux de croissance le plus élevé.*

Ces 30 dernières années, les exportations des pesticides à partir de l'union européenne ne cessent d'augmenter. Les pesticides extrêmement dangereux, appelés les HHP :Hardly Hazardous Pesticides, en font partie et représentent environ un tiers des 1000 matières actives dans le monde. La répartition des pesticides par catégories s'est stabilisée maintenant depuis quelques années où les Herbicides (46%) se retrouvent en première place suivies par les fongicides avec 31%, les insecticides avec 12 % et enfin divers avec 11% (**Statistica, 2021**). Les cinq principaux fabricants vendent moins de pesticides HPP dans les pays industrialisés qu'en Asie, Afrique et Amérique latine : ces HPP représentent en Allemagne et en France 12 % et 11 % des ventes totales, au Brésil 49% et 59% en Inde. Cette tendance s'explique par l'interdiction de plusieurs pesticides dangereux de la part de l'union européenne ainsi que par les pays appartenant à l'Association Européenne de libre-Echange (AELE). Cependant, ces produits sont toujours autorisés dans d'autres pays à cause d'une

réglementation moins stricte comme par exemple en Amérique du Sud et en Asie, ainsi qu'en Afrique, où les ventes de pesticides sont en nette augmentation.

L'Afrique reste le continent qui consomme le moins avec une moyenne inférieure à 0,4 kg par hectare de terre cultivée contre environ 2,6 kg dans le reste du monde, mais elle commence à rattraper son retard. Le développement de l'industrie agricole dans cette région du monde engendre l'augmentation de l'utilisation de pesticides extrêmement dangereux. Il faut savoir qu'avant d'être mis sur le marché, les pesticides doivent respecter un processus d'approbation qui est accordé pour une période qui ne dépasse pas les 10 ans lors duquel sont testés leurs impacts sur la santé humaine et l'environnement. Lors d'un renouvellement, de nouvelles données doivent être intégrées au processus d'examen. Il faut signaler que les substances qui ne remplissent pas certains critères d'exclusion cancérigène-mutagène ou nocives pour le système endocrinien ne sont pas approuvées. Et malgré cela, certaines substances arrivent à avoir une nouvelle approbation, c'est le cas du glyphosate. En revanche, les effets indirects des pesticides sur les chaînes alimentaires et la biodiversité sont peu étudiés, de même pour les effets des mélanges, difficiles à prévoir. Les pesticides dangereux doivent être progressivement éliminés. Les Bio-pesticides peuvent constituer une solution alternative lorsque les autres mesures prises dans le cadre de la lutte intégrée contre les ennemis des cultures ont échoué.

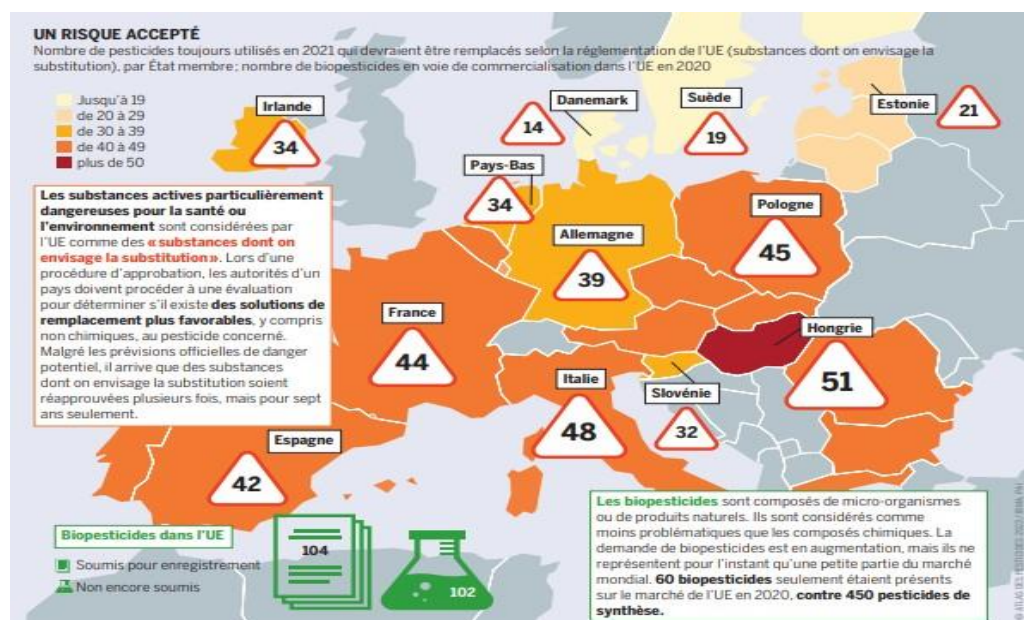


Figure 3. Nombre de produits encore utilisés en 2021 (Atlas des pesticides, 2023)

#### 1.4. Consommation des pesticides en Algérie

L'augmentation du marché Algérien en pesticides est en perpétuelle évolution ; en 2010 les importations étaient de 59,6 millions USD de pesticides, en 2012 près de 92 millions USD et près de 108 millions USD en 2014 et 2015 (**FAOSTAT, 2021**).

Selon la même source, **FAOSTAT (2021)**, l'Algérie a importé en 2015 près de 17.566.404 tonnes de pesticides de tous types (à usage agricole et non agricole) l'équivalent de 108 603,74\*10<sup>3</sup> USD dont seulement 237 tonnes (1,34%) étaient des composés dangereux alors que la quantité de pesticides importés à des fins agricoles était d'environ 4517 tonnes, dont 1740 tonnes (39%), 323 tonnes (7%) et 206 tonnes ( $\approx$  5%) étaient des fongicides-bactéricides, des insecticides et herbicides (**Bettiche et al., 2020**).

Environ 400 pesticides sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés largement répandues utilisés par les agriculteurs et plus de 30 000 tonnes de pesticides sont utilisées chaque année (**Slimani et al., 2011**). L'index algérien (2015) des produits phytosanitaires utilisés en agriculture comprend 173 matières actives (IA) appartenant à 83 groupes chimiques représentés par 757 formulations commerciales (CF) catégorisées en : 36% fongicides, 29% insecticides et 22% herbicides.

Les données d'importation et d'exportation de pesticides sont en général un indicateur des tendances d'utilisation et une excellente source d'information pour l'évaluation des risques (**Bravo et al., 2011**). Cependant, en Algérie, l'évaluation des risques liés à l'utilisation des pesticides au niveau régional et national est difficile et ce en raison de l'absence de données nationales sur les quantités totales d'ingrédients actifs importés ainsi que le manque d'information sur l'utilisation totale de pesticides par année, par type de production ou par superficie. Seule la quantité de pesticide importée répertoriée en fonction de leurs activités biologiques est signalée par les autorités.

Dans notre pays, un contrôle des produits phytosanitaires est établi en fonction de la politique du pays. Aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'est pas homologué (**journal officiel, 2010**).

## 1.5. Exposition toxique universelle

Tous les ans, près de 385 millions d'individus sont victimes d'empoisonnement par les pesticides. Les Nations unies tentent d'améliorer la manipulation de ces substances au niveau international afin d'éviter les dommages, mais font face à un manque de réglementation efficace. 44 % de la population agricole mondiale est touché par les empoisonnements et jusqu'à 83 % dans des pays à faible revenu comme par exemple Le Burkina Faso. Cependant, on pourrait supposer que le nombre réel est bien plus élevé car beaucoup de pays ne disposent pas de bureau central de communication en la matière et ainsi les accidents ne sont pas déclarés et les chercheurs avaient donc estimé que sur la même année, le nombre d'intoxications au travail avait atteint les 25 millions. Ce taux élevé est intimement lié à l'augmentation de l'utilisation mondiale des pesticides où la quantité utilisée a augmenté de 81% de 1990 à 2017. Cette hausse est de 484% en Amérique du Sud soit presque 5 fois et de 97% en Asie.

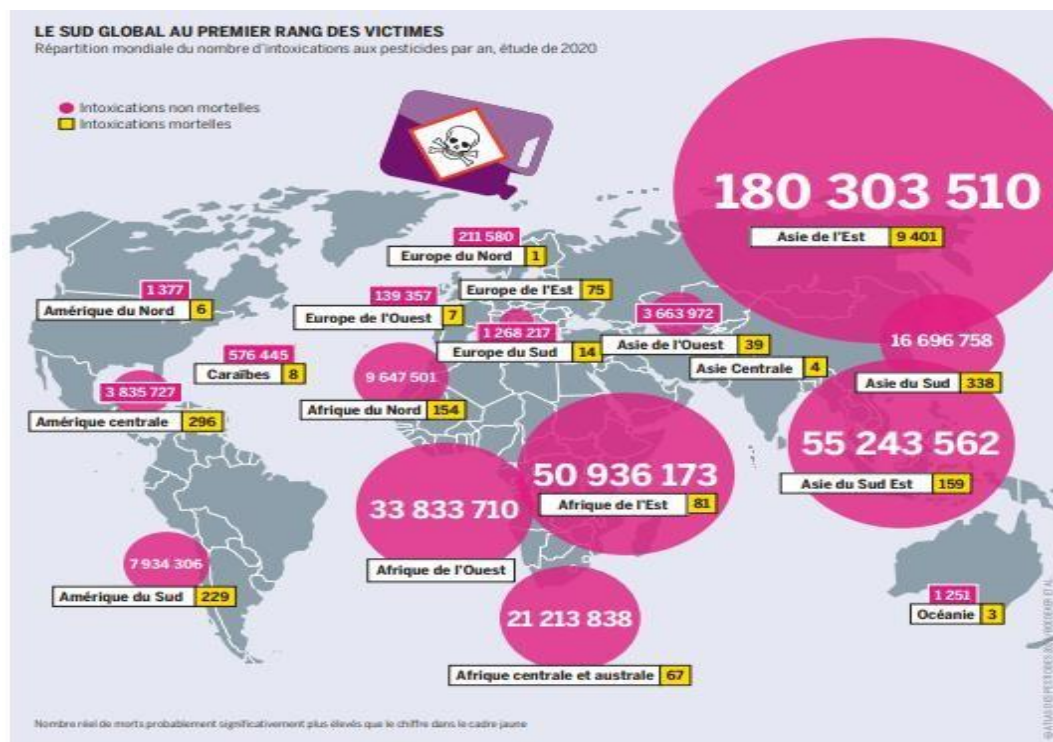


Figure 4. Nombre annuel d'intoxications aux pesticides dans le monde

(Atlas des pesticides, 2023)

La majorité des victimes se trouvent dans les pays où les réglementations sont très peu strictes. L'Inde par exemple totalise 60 % des morts liés aux empoisonnements. Ainsi, l'OMS l'ONU (FAO) ont établi des critères relatifs à la gestion des pesticides dans le but de lutter contre ce fléau qui ne cesse d'augmenter. Parmi les recommandations, ils ont interdit les pesticides trop dangereux ainsi que ceux qui nécessitent un équipement de protection individuel inconfortable et onéreux et préconisent l'utilisation de pratiques agro-écologiques.

Le risque d'intoxication pour l'homme résulte à la fois du danger lié à la toxicité de la substance active (toxicité aiguë et chronique), et de l'exposition au pesticide (dose journalière absorbée, quantité de résidus présents). Les exigences en laboratoires permettent de quantifier ces notions.

Lorsque des symptômes spécifiques apparaissent suite à une exposition, le diagnostic clinique d'un empoisonnement est posé. Les effets se manifestent soit immédiatement soit au bout de plusieurs heures. Les effets aigus dits à court terme peuvent se manifester par une éruption cutanée ou une irritation des yeux mais également de la fatigue, des maux de tête ou des douleurs musculaires, des nausées, vomissements ou diarrhée. Les cas d'empoisonnement grave peuvent entraîner l'arrêt de certains organes comme le cœur, les poumons ou les reins.

## **II. Impacts de l'exposition aux pesticides**

### **2.1. Phénomènes de dispersion**

La présence des pesticides dans l'environnement est dans la plupart du temps intentionnelle (les applications en agriculture, dans les jardins privés ou publiques), mis à part les déversements accidentels, cependant, les produits appliqués peuvent être rencontrés dans différents compartiments même ceux qui n'étaient pas destinés au départ. Une grande partie des matières actives appliquées par pulvérisation foliaire est perdue dans l'air (30 à 50%) ou dans les sols (70%). Les propriétés physico-chimiques des pesticides ainsi que les conditions d'utilisation conditionne leur devenir dans l'environnement (**Aubertot et al., 2005**).

Après épandage, ils peuvent se volatiliser dans l'atmosphère, depuis le sol nu ou à partir du couvert végétal où les facteurs principaux qui influencent le flux de volatilisation sont les propriétés physico-chimiques du produit, les conditions pédoclimatiques (vent, température, humidité...) ainsi que le mode de pulvérisation (**Voltz et al., 2005**).

Sous l'effet de l'érosion éolienne, les particules de sol ainsi que les molécules qui y sont adsorbées peuvent être entraînées ce qui contribue à la présence de pesticides dans l'air. Les pesticides peuvent être ainsi transportés sur de longues distances, puis retomber au sol par dépôt ou lessivage par les pluies. C'est le cas par exemple du DDT ou du chlordane qui ont été détecté dans des contrées très lointaines telles que l'Arctique ou l'Antarctique où ces molécules n'ont jamais été utilisées (**Kohler et Triebkorn, 2013**).

L'entraînement par l'eau des substances appliquées sur les feuilles est un phénomène très variable. Le maximum des pertes par lessivage foliaire est enregistré quand la pluie survient peu de temps après le traitement, pouvant atteindre 70 à 80 % des quantités appliquées pour les molécules polaires (**Leonard, 1990**).



**Figure 5. Devenir des pesticides dans l'environnement**

**(Rapport d'expertise INRA-CEMAGREF, 2005)**

Généralement, le transport des pesticides se fait sous forme dissoute dans les eaux de ruissellement, en revanche une petite partie adsorbée sur les particules solides peut aussi être entraînée notamment pour les molécules hydrophobes les plus fortement retenues. Suite à l'infiltration ou la percolation, les nappes souterraines peuvent être contaminées par les eaux de pluies chargées en pesticides et dont la vitesse dépend de la porosité du sol. Ainsi, dans un sol poreux (gravier, sable), les pesticides sont soustraits à l'action des microorganismes et aux processus de rétention, ce qui rend la nappe particulièrement vulnérable à la contamination. Au contraire, lorsque le sol à une texture fine (argileux), il est moins perméable à la contamination, car l'eau s'y infiltre plus lentement (**Amalric et al., 2003**).

## **2.2. Voies d'exposition aux pesticides**

Il existe une multitude de voies d'exposition des organismes vivants aux pesticides telles que la pénétration par inhalation, par ingestion ou par contact cutané. L'évaluation des expositions des individus est très difficile en raison de la grande variété de produits existants (**Bourbia Ait hamlat, 2013**).

Les voies de contamination sont multiples et permettent ainsi au pesticides de franchir diverses barrières biologiques et atteindre les sites du métabolisme. La toxicité est évaluée par la DE50/CE50 qui représente la dose/concentration qui provoque un effet particulier de 50% de la population soumise au toxique. Si cet effet est la mort, on parle alors de dose/concentration létale 50 (DL50/CL50). La dose (ou la concentration) maximale sans effet (DMSE) est la dose immédiatement inférieure à celle qui provoque le moindre effet dans la même épreuve expérimentale (**Fournier, 2014**). En revanche, les effets indirects se produisent sur toutes les espèces non ciblées et peuvent se manifester longtemps après que l'exposition ait eu lieu à cause de la rémanence des substances (**Ehrhardt, 2006**).

### **2.3. Impact des pesticides sur l'Homme et son Environnement**

La plupart des effets nocifs pour l'homme et son environnement sont provoqués par le manque de sélectivité des pesticides vis-à-vis de leur cible. Plusieurs études ont rapporté que la quantité de pesticides appliquée qui atteint le ravageur visé est estimée à moins de 0.3%, les 99.7% restants se retrouvent donc dispersés dans l'environnement (**Pimentel, 1995**). Par exemple en Chine et selon les rapports de Greenpeace publiés en 2013, 70 % des pesticides utilisés sont infiltrés dans les sol et dans les eaux souterraines et ne sont donc pas absorbé par les plantes (**Fan, 2017**).

#### **2.3.1. Impacts sur l'homme**

L'homme peut être exposé à son insu aux pesticides et lorsque des symptômes caractéristiques apparaissent, le diagnostic clinique d'un empoisonnement est alors posé. Certains effets se manifestent dans l'immédiat alors que d'autres surviennent un peu plus tard au bout de quelques heures. Les effets à court terme dits **aigus** rassemblent les irritations des yeux ou des éruptions cutanées, la fatigue, l'absence d'énergie, des maux de tête et même des douleurs dans les membres. Des nausées, des vomissements et diarrhée peuvent apparaître aussi car l'appareil digestif est fréquemment touché. Si l'empoisonnement est grave, la mort peut survenir suite à l'arrêt de certains organes comme le cœur, le poumon ou les reins. Dans le monde, le nombre total de décès par empoisonnement non intentionnel par les pesticides s'élève à environ 11 000 par an (**Atlas des pesticides, 2023**).

Outre la toxicité proprement dite, il faut tenir compte des effets carcinogènes, immunodépresseurs, mutagènes, neurotoxiques et tératogènes (**Hayes, 1991**). Un lien de causalité a été soupçonné entre l'exposition aux pesticides et l'élévation du taux de certains cancers (foie, sein, prostate, testicule), de l'endométriose, de malformation congénitale de l'appareil reproducteur masculin ainsi que du nombre de spermatozoïdes (**Davis et Bradlow, 1995 ; Kelce et al., 1995**). Mais également, un taux accru de maladies chroniques comme la maladie de Parkinson, diabète de type 2, asthme, allergies, obésité et troubles endocriniens. Le contact avec les pesticides peut également provoquer des malformations congénitales, des accouchements avant terme et des troubles de la croissance.

Récemment, une polémique à propos du glyphosate a été largement médiatisée. Plusieurs personnes ont poursuivi en justice le géant de l'agrochimie « Bayer » après avoir développé un cancer suite à l'exposition à cet herbicide. Il a perdu ainsi de nombreux procès et environ 96 000 plaignants ont obtenu gain de cause (pour un montant total de 11,6 milliards d'euros) et 30 000 procès sont toujours en cours (**Atlas des pesticides, 2023**).

Le glyphosate a été classé « probablement cancérigène pour les humains » par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) – agence intergouvernementale dépendant de l'OMS – en Mars 2015. Quelques années plus tard en 2019, une scientifique réalisée par l'université de Washington a rapporté une augmentation de 41% du risque relatif global de lymphome non hodgkinien chez les individus ayant été exposés à des herbicides à base de glyphosate.

*In vitro*, une augmentation des aberrations chromosomiques chez des lymphocytes humains a été signalée en présence de certains pesticides tels que le Carbofuran, seul (**Naravaneni and Jamil, 2007**) ou en mélange avec l'Endosulfan et le Monochrotophos (**Daset et al., 2007**). Ainsi, plusieurs expérimentations ont démontré la capacité de certains produits (Endosulfan, Roténone, organophosphorés/Chlorpyrifos), à induire un stress oxydatif entraînant des perturbations du processus de survie et de la prolifération cellulaire notamment certaines voies de signalisation cellulaire (MAPkinase, FAS/TNF) et certaines caspases (**Ledirac et al., 2005 ; Saulsbury et al., 2008**). Il a été démontré qu'une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) après exposition aux pesticides était à l'origine d'effets neurotoxiques (**Rio and Velez-Pardo, 2008**), d'altérations du système immunitaire (**Li and Kawada, 2006**) ainsi que des effets cancérigènes (**Antherieu et al., 2007**) et génotoxiques (**Calviello et al., 2006**).

### 2.3.2. Impacts sur l'Environnement

La majorité des pesticides sont fabriqués pour neutraliser les organismes nuisibles, il est tout à fait logique que dans le monde presque les deux tiers des terres agricoles soient contaminées par au moins une substance active. En Europe par exemple, des recherches ont révélé que plus de 80% des 317 couches arables agricoles étudiées contiennent des résidus de pesticides. Les substances les plus souvent retrouvées et les plus concentrées sont le DDT (insecticide interdit depuis longtemps), le glyphosate (et son produit de dégradation l'AMPA) ainsi que certains fongicides tels que l'époxiconazole, le tébuconazole et le boscalid.

Il est très difficile de mesurer l'écotoxicité d'une substance car il faudrait tenir en compte les milliers d'espèces d'êtres vivants qui toutes réagissent différemment envers l'exposition aux polluants. Effectivement, plusieurs études ont rapporté la présence des pesticides dans différents compartiments (Coupe *et al.*, 2000 ; Rastelli *et al.*, 2002 ; Scheyeret *et al.*, 2005) et ont révélé l'induction de divers effets toxiques chez différents organismes (Sbartai *et al.*, 2009, 2012, 2021 ; Ammamra *et al.*, 2015 ; Moumeni *et al.*, 2016 ; Belaid *et al.*, 2019, 2021). Un retard dans le développement (Bernabò *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2019a), une génotoxicité (Castro *et al.*, 2018), une hépato-toxicité (Schmidt *et al.*, 2016 ; Knebel *et al.*, 2019) ainsi qu'une atteinte des systèmes nerveux (Altenhofen *et al.*, 2017) et reproducteur (Sancho *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2019a).

#### 2.3.2.1. Impact sur l'écosystème terrestre

Il faut savoir qu'une bonne quantité des pesticides atteint toujours le sol où vivent entre autres des champignons, des bactéries, des insectes et des vers de terre, alors que la plupart des traitements sont appliqués sur les parties aériennes des plantes (Bart *et al.*, 2019). En effet, l'impact des pesticides sur les différents taxons et notamment sur les organismes du sol ne sont pas encore très clairs (Pelosi *et al.*, 2013).

Les **vers de terre** par exemple qui sont considérés comme les ingénieurs de l'écosystème (Jones *et al.*, 1994), représentent la biomasse la plus importante qui vit dans les écosystèmes terrestres souvent jusqu'à une tonne par hectare dans les feuillus et les pâturages (Lavelle and Spain, 2001). Ils peuvent modifier la structure du sol, améliorent la régulation de l'eau ainsi que des nutriments et de la production primaire (Bottinelli *et al.*, 2010 ; Blouin *et al.*, 2013 ; Bart *et al.*, 2018). De plus, ils ont été reconnus comme bio indicateurs de l'activité des sols (Paoletti, 1999) et ont été utilisés comme organismes modèles dans les essais éco-toxicologiques depuis plus de 30 ans (OCDE, 1984 ; Spurgeon *et al.*, 2003).

Durant les années 1980, des tests aigus standardisés ont été développés en utilisant des vers de terre pour évaluer les effets des polluants. Par la suite, d'autres tests (survie, reproduction et comportement) ont été approuvés par l'organisation internationale pour la normalisation ISO (ISO, 2008 ; 2012 a,b) ou par l'organisation de coopération et du développement économique (OCDE, 2004). Ces tests sont régulièrement mis à jour et la ligne directrice 222 (2004) de l'OCDE est utilisée dans l'évaluation des risques associés à l'homologation de nouveaux pesticides (EFSA, 2017). Le plus souvent, et après autorisation de mise sur le marché, les pesticides ne sont plus soumis à aucune évaluation plus approfondie par les agences nationales qui ont autorisé leur utilisation.

En raison du rôle majeure que joue les vers de terre dans le fonctionnement des sols, les effets des pesticides sur ces derniers ont fait l'objet d'innombrables études mais qui devraient être de plus en plus détaillés (Pelosi et al., 2013). Il faut savoir que les études écotoxicologiques les plus publiées jusqu'à présent se sont surtout concentrées sur les effets des métaux lourds chez les vers de terre (Lowe et Butt, 2007) tandis que les effets des pesticides ont été moins étudiés. Dans la littérature, la plupart des études ont été réalisées dans les années 1980 même si certaines sont plus récentes mais se concentrent beaucoup plus sur des composés qui ne sont plus autorisés. L'exposition des vers de terre aux pesticides peut engendrer directement (stress aigu) des effets délétères sur leur survie ou indirectement en affectant leurs reproductions, leurs systèmes nerveux ou en provoquant des changements comportementaux. Il existe des différences notables des effets toxiques des pesticides chez les vers de terre en fonction de l'exposition (cutanée ou par ingestion). Ces effets dépendent des espèces, de la nature du contaminant et de sa concentration, ainsi que des caractéristiques du sol (Roriguez Campos et al., 2014). A ne pas négliger la période et mode d'application (épandage de granulés, pulvérisation, etc.), la matière active qu'ils contiennent, la fréquence ainsi que l'intensité d'application (Edwards et Bohlen, 1996).

Dans l'environnement, l'exposition des vers de terre aux pesticides dépend de l'espèce exposée et de sa catégorie écologique, de l'habitat, de l'alimentation ainsi qu'aux métabolites. Cette exposition peut engendrer une incapacité d'exercer leurs fonctions vitales dans le sol (Rathore et Nollet, 2012). Les espèces épigées et anéciques sont connues comme étant plus sensibles que les endogées vis-à-vis des pesticides (Singh et al., 2016).

Les insecticides peuvent, particulièrement, être dangereux pour les antagonistes (compétiteurs, prédateurs et parasites) des ravageurs cibles. **Holland et al., (1994)**, qui ont travaillé dans le domaine de l'agriculture intégrée, sont arrivés à la conclusion que la diminution de certaines populations d'insectes et autres invertébrés est due généralement à l'usage massif de pesticides. Il existe peu de données toxicologiques disponibles qui traitent l'impact de plusieurs pesticides sur différentes espèces d'insectes hormis pour l'Abeille domestique pour laquelle il existe énormément de données pour la plupart des pesticides (**Linders et al., 1994**) et ce en raison de son importance économique.

Parallèlement, les **oiseaux** sont considérés comme des éléments très appréciés de la faune sauvage. A l'aube des années 50, des mortalités suite à l'ingestion d'insectes handicapés traités par du DDT ou avec d'autres produits ont été largement rapportés (**Madhun et Freed, 1990**). A cette époque, le traitement des graines aux organochlorés a tué énormément d'oiseaux granivores et dans certains cas a causé des effets sub-létaux lorsque les doses n'étaient pas létales. Le DDT affecte les capacités reproductrices des oiseaux (**Leblanc, 1995**) entraîne la ponte d'œufs à la coquille très mince, ce qui représente l'effet le plus important sur ces espèces (**Hall, 1987**).

L'une des conséquences de l'ingestion d'une nourriture contaminée par les pesticides est généralement la mort des **mammifères**. Les résidus sont accumulés en plus grande quantité chez les prédateurs que chez les herbivores. Des opérations de lutte menées avec des organochlorés ont signalés la forte mortalité des mammifères exposés (**Madhun et Freed, 1990**). Il a été également montré que l'exposition péri- ou néonatale de mammifères à des pesticides comme l'aldrine, l'atrazine, le chlordane et la dieldrine pouvait provoquer des différenciations sexuelles chez ces animaux (**Bougrouz & Boualague, 2018**). De plus, l'Alachlore, le Chlorpyrifos, le Mancozèbe et le Monochrotophos se sont avérés avoir un effet sur l'ADN en augmentant le nombre d'aberrations chromosomiques chez des cellules mammifères (**Calviello et al., 2006**) et des bases oxydées de type 8-OH-dG (**Calviello et al., 2006**) ainsi qu'une présence de micronoyaux (**Peitl et al., 1996**).

Aussi, des pesticides comme les carbamates et les organophosphorés sont connus pour être potentiellement neurotoxiques en provoquant l'inhibition de l'activité acétylcholinestérase entraînant une hyperexcitabilité des cellules neuronales (**Moser, 2007**). La diminution de l'activité acétylcholinestérase cérébrale est liée à une suppression de la

sécrétion d'hormones stimulant les gonades entraînant des problèmes de fertilité (**Lyons, 2000**). De plus, d'autres produits tels que le Lindane, l'Endosulfan, la Dieldrine et l'Eldrine pourraient provoquer une inhibition des récepteurs GABA et une activation des récepteurs glutaminergiques, induisant un syndrome d'hyperexcitabilité qui peut évoluer en l'apparition de convulsions (**Sunol et al., 2008**).

Cependant, les effets à faibles doses sont moins bien décrits alors que la plupart de ces études utilisent des doses relativement fortes. L'exposition aiguë ou accidentelle à des doses relativement fortes uniquement d'organophosphorés inhibent l'activité acétylcholinestérase. Des résultats ont montré que certains organophosphorés à faibles doses sont capables de se lier aux protéines au niveau du cerveau et du thymus. Ces propriétés pourraient être à l'origine de leurs effets neurotoxiques à long terme (**Carter et al., 2007 ; Merhi, 2008**).

### **2.3.2.2. Ecosystème aquatique**

La toxicité aquatique concerne certaines espèces d'algues, de crustacés (daphnie) (**Belaid et al., 2019, 2021**) et des poissons qui représentent les trois niveaux trophiques majeurs. Aux Etats-Unis par exemple, **Pimentel et al., (1993)** ont estimé la mortalité des poissons, sur une période de 10 ans (de 1977 à 1987), suite à l'exposition aux pesticides entre 6 et 14 millions de poissons. Des recherches antérieures ont démontré la présence de résidus de pesticides dans les écosystèmes fréquemment en phase aqueuse par exemple dans les eaux de rivières (**Zhang et al., 2004**), dans les eaux usées (**Katsoyiannis et al., 2004**), dans les eaux souterraines (**Worrall et al., 2004**) et dans les eaux de pluie (**Haraguchi et al., 1995**). De même, les études de **Oliveira et al., (2012)** ont révélé des effets aigus de la deltaméthrine sur la vitesse de nage de la crevette commune *Palaemon serratus*. Par exemple, certains fongicides comme le tébuconazole provoquerait des perturbations de la glande thyroïdienne chez les organismes aquatiques (**Li et al., 2019b**).

### III. Réponse cellulaire et stress oxydant

#### **3.1. Stress oxydant : origine et déséquilibre**

L'expression de stress oxydant a été employé pour la première fois par **Sies (1985)**, c'est d'une altération cellulaire et tissulaire causée par des molécules oxydantes. Ce phénomène peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale, d'une activation de systèmes enzymatiques (NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine, transferrine) ou bien d'une oxydation de certaines molécules (**Lehucher-Michel et al., 2001 ; Otmani, 2018**).

L'organisme possède des systèmes protecteurs mais qui peuvent être dépassés à causes de la production importante de radicaux libres, ce qui peut conduire à des dommages au niveau moléculaire, cellulaire et même au niveau des organes menant potentiellement à la mort cellulaire (**Ďuračková et al., 2008**).

#### **3.2. Espèces oxygénées activées (EOA)**

A l'état physiologique, les espèces réactives sont produites en permanence dans l'organisme par le métabolisme de l'oxygène et ne sont pas en soit des produits agressifs. Ils interviennent aussi comme des régulateurs de voies de signalisation et de l'expression de certains gènes participant ainsi à l'homéostasie vasculaire. Ils jouent le rôle de messenger cellulaire, dans l'apoptose et dans la défense contre les infections (**Harman, 2002**). Lorsqu'ils sont formés en trop grande quantité, ils deviennent «pathologiques» en activant l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires ou des protéines d'adhésion.

En raison de leur instabilité, les EOA ont la capacité de provoquer des modifications oxydatives délétères potentiellement impliquées dans l'apparition de pathologies (**Sekli-Belaidi, 2011**). Ils tentent de ré-apparier l'électron célibataire existant dans la couche externe en s'attaquant à toutes les molécules susceptibles de céder un électron ; ce qui diminue leur durée de vie qui est très courte. La molécule agressée devient donc à son tour radicalaire, initiant ainsi des réactions en chaîne (**Lehucher-Michel et al., 2001**).

### 3.3. Principales cibles biologiques des EOA

- a. **L'ADN** : La guanine par exemple peut réagir avec l'hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ) pour donner le 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui s'associe à son tour avec l'adénine à la place de la cytosine, provoquant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et du vieillissement (**Lehucher-Michel et al., 2001**).
  
- b. **Protéines** : Les acides aminés possèdent différentes affinités différentes envers les EOA. Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, proline, cystéine et tyrosines. Ils peuvent subir des attaques radicalaires induisant ainsi une oxydation de certains résidus et ayant pour conséquence la production de groupements carbonylés, la rupture des chaînes peptidiques ainsi que la formation de ponts bi-tyrosines intra- et inter chaînes. La plupart des dégâts sont irréversibles induisant ainsi d'importants changements fonctionnels. Certaines protéines oxydées sont très peu dégradées formant des agrégats qui s'accumulent au niveau cellulaire ainsi que dans le compartiment extracellulaire (**Lehucher-Michel et al., 2001 ; Haleng et al., 2007**).
  
- c. **Lipides membranaires** : La peroxydation lipidique est enclenchée suite à une déshydrogénation des acides gras polyinsaturés (AGPI) où l'hydroxyle ( $\text{OH}^\circ$ ) arrache un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons d'un AGPI. Le radical lipidique obtenu réagit à nouveau avec de l' $\text{O}_2$  pour générer un radical peroxyde ( $\text{ROO}\bullet$ ) suffisamment réactif pour arracher un hydrogène à un AGPI voisin propageant ainsi la réaction (**Atkin et al., 2005**). Ce processus peut entraîner une altération de la fluidité membranaire conduisant automatiquement à la mort cellulaire. Les peroxydes produits seront neutralisés par la glutathion peroxydase ou continueront à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes (malondialdéhyde, 4-hydroxynonéal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues (**Lehucher-Michel et al., 2001**).
  
- d. **Lipoprotéines** : L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulants aboutit à la formation de LDL oxydées qui seront par la suite captées par des macrophages.

L'activité des récepteurs des macrophages n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol, ces derniers se transforment petit à petit en cellules spumeuses (Nakajima *et al.*, 2006).

### 3.4. Systèmes de défense

Deux sortes d'antioxydants existent : un premier qui est endogène constitué essentiellement d'enzymes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase) et de protéines (ferritines, transferrine, céruléplasmine, albumine). Le deuxième est exogène principalement alimentaire issu de fruits et légumes riches en vitamines, en caroténoïdes, ubiquinones, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; à cela s'ajoute un dernier système qui est un système de réparation des altérations oxydatives tels que les endonucléases (Haleng *et al.*, 2007).

#### 3.4.1. Définition des antioxydants

Il s'agit de « toute substance qui, une fois présente à une concentration faible en comparaison avec celle d'un substrat oxydé, retarde ou empêche l'oxydation du substrat ». Des années après, cette définition a été reconnue comme « clairement imparfaite » (Medina-Navarro *et al.*, 2010), ainsi une nouvelle définition est apparue : "une substance qui retarde, empêche ou élimine les dommages oxydatifs à une molécule cible" (Gutteridge *et Mitchell*, 1999 ; Medina-Navarro *et al.*, 2010).

#### 3.4.2. Différents types d'antioxydants

##### A. Systèmes enzymatiques

✚ **Superoxyde dismutase (SOD)** : est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman, 2007) et qui est très répandue chez les organismes eucaryotes et procaryotes (Ratnam *et al.*, 2006). Trois type de SOD co-existent : la Cu/Zn-SOD cytosolique, la Mn-SOD mitochondriale et la Cu/Zn-SOD extracellulaire (Zelko *et al.*, 2002). La différence se situe dans le métal que contient le site actif, dans la composition en acides aminés ainsi que les cofacteurs. Les niveaux les plus élevés chez l'homme se trouvent dans le foie, la glande surrénale, les reins et la rate (Scheibmeir *et al.*, 2005). La SOD convertit le superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction ci-contre (Matès *et al.*, 1999 ; Matès, 2000).

- ✚ **Catalase (CAT)** : localisée essentiellement dans les peroxysomes et les mitochondries (**Deaton et Marlin, 2003**), spécialement dans le foie où on trouve la plus grande activité, suivie par les érythrocytes et les poumons (**Ratnam et al., 2006**). Quatre sous-unités protéiques la compose, chacune renferme un groupement héminique avec le  $Fe^{3+}$  lié au site actif. Une molécule de  $NADPH^+H^+$  est associée à chaque molécule qui la protège d'une éventuelle inactivation par le peroxyde d'hydrogène (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). La CAT réagit très efficacement avec le  $H_2O_2$ , pour former de l'eau et de l'oxygène moléculaire, et avec les donneurs d'hydrogène (méthanol, éthanol, acide formique ou phénol) (**Matès et al., 1999**).
  
- ✚ **Glutathion-S-Transférase (GST)** : C'est une enzyme principalement cytosoliques qui joue un rôle primordial dans la détoxification de composés électrophiles et sont impliquées dans des opérations diverses de transports et de biosynthèses intracellulaires (**George et Buchanan, 1990**). Son rôle comme enzyme de la phase II consiste à associer un groupement hydrosoluble à un xénobiotique préalablement métabolisé ou non par les enzymes de la phase I afin de le rendre lui-même plus hydrosoluble et donc plus facilement excrétable par l'organisme. Elle catalyse la conjugaison du GSH à une multitude de substrats hydrophobes présentant un centre électrophile (**Beckett et Hayes, 1993**).

## B. Systèmes non-enzymatiques

La plupart de ces substances ne sont pas synthétisées par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation, nous retrouvons ainsi les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), l'ubiquinone, le cytochrome c et les vitamines E et C (**Haleng et al., 2007**).

- ✚ **Glutathion (GSH)** : tripeptide ubiquitaire endogène possédant des propriétés réductrices et nucléophiles qui lui permettent de jouer un rôle majeur dans la défense et la détoxification résultant principalement de sa fonction de co-substrat des GPx et de la GST. Le GSH protège les tissus et les protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine, l'albumine, et peut se lier aux métaux toxiques (mercure, arsenic... etc.) (**Lyn Patrick, 2006**). Physiologiquement, le glutathion réduit (GSH) est maintenu en équilibre dans le cytosol avec sa forme oxydée disulfure (GSSG).

Il neutralise les EOA comme l'hydroxyle et peut réduire le peroxyde d'hydrogène et les lipoperoxydes et inactive l'oxygène singulet à PH=7.

- ✚ **Métallothionéines** : riches en soufre et en métaux, sont des protéines non-enzymatiques ayant un faible poids moléculaire (environ 10 kDa) et composé de 60 à 75 acides aminés essentiellement de la cystéine qui représente environ 30% de l'ensemble des acides aminés. Ils ne contiennent pas d'acides aminés aromatiques ni d'histidine et sont localisées dans le cytoplasme (**Fowler et al., 1987**). Les MT ont été identifiées chez près de 50 espèces d'invertébrés aquatiques essentiellement des mollusques et des crustacés. Leur fonction principale consiste à réguler les concentrations intracellulaires de certains métaux essentiels à l'organisme, tels que le cuivre et le zinc, en les séquestrant afin d'éviter leur circulation à l'état libre dans les tissus et leur fixation sur d'autres protéines vitales (**Winge et Miklossy, 1982**).

### C. Autres antioxydants

- ✚ **Oligoéléments** : Les métaux essentiels tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) participants à la défense contre le stress oxydant.
- ✚ **Vitamines** : En raison de la liposolubilité de la vitamine E par exemple, cette dernière peut se fixer aux membranes en enfermant ainsi les EOA afin d'empêcher la propagation de la peroxydation lipidique.
- ✚ **Caroténoïdes** : Les fruits et les légumes sont les principales sources alimentaires des caroténoïdes dont 600 ont été isolés. Le composé le plus efficace est le  $\beta$ -carotène, également appelé provitamine A (**Haleng et al., 2007**).
- ✚ **Coenzyme Q10** : il est lipophile ce qui lui permet de s'insérer facilement dans les membranes et les lipoprotéines. En plus de son rôle majeur dans la chaîne respiratoire mitochondriale, c'est un puissant inhibiteur de la peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E (**Garait, 2006**).
- ✚ **Polyphénols** : Ce sont d'excellents antioxydants qui neutralisent les EOA et de très bon chélateurs de métaux tels que le Fe et le Cu (**Kaliora et al., 2006**).

### 3.5. Notion de biomarqueurs

Les biomarqueurs sont définis comme un changement observable et/ou mesurable au niveau biochimique, moléculaire, cellulaire physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (**Key et al., 2006**). Ils peuvent être classés en 3 catégories : Biomarqueurs d'exposition, Biomarqueurs d'effet et Biomarqueurs de sensibilité/susceptibilité.

#### Cas Acétylcholinestérase (AChE)

Elle est considérée comme étant un biomarqueur en puissance de l'état des fonctions neurologiques (**Grue et al., 1997**). L'acétylcholine assure le transfert du flux nerveux au niveau de la synapse. Ce neuromédiateur se fixe sur les récepteurs cholinergiques au niveau de la membrane post-synaptique. L'interaction de l'acétylcholine avec le récepteur induit une dépolarisation membranaire à l'origine du potentiel d'action qui se propage tout au long de l'axone (**Bocquené et Galgani, 1998**).

Les carbamates et les organophosphorés des inhibiteurs de l'AChE et sont connues par leur haute toxicité envers des organismes non cibles dont les invertébrés aquatiques par exemple (**Martin et al., 2011 ; Van Dyk et Pletschke, 2011**). Les inhibiteurs de l'AChE perturbent le flux nerveux en se liant au site estérique de l'AChE inhibant la dégradation de l'acétylcholine en acétate et choline. L'accumulation d'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques entraîne une paralysie et éventuellement la mort (**Zinkl et al., 1991 ; Saglio et al., 1996**).

***CHPITRE II.***  
***MATERIEL ET METHODES***

L'étude menée est répartie en deux volets, le premier consiste en l'élaboration d'une enquête auprès des agriculteurs afin d'évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides dans la région d'El-TARF et un deuxième volet qui traite de l'impact de certains de ces pesticides *in vitro* chez deux modèles biologiques non cibles et qui a été réalisée au sein du *Laboratoire pédagogique de Physiologie Végétale* du département de Biologie ainsi qu'au niveau du *Laboratoire de Toxicologie Cellulaire (LTC)* de l'Université Badji Mokhtar - Annaba-

## ***1. Evaluation du risque lié à l'utilisation des pesticides***

Tous les ans, 2,7 million de tonnes de matière actives sont utilisées mondialement dans l'environnement, particulièrement en agriculture, afin d'éviter les pertes de récoltes (EPA, 2017). Les résidus des pesticides qui s'accumulent dans l'environnement peuvent affecter directement l'environnement et la santé humaine, en contaminant les sources d'eau potable, les sources de nourriture ou en diminuant la biodiversité (Sabatier *et al.*, 2013 ; Syberg *et al.*, 2016).

Ainsi, une enquête a été établie auprès des agriculteurs de la région d'El-Tarf afin de recueillir des informations concernant l'utilisation des pesticides dans la région. Cette enquête s'intéresse tout particulièrement à l'effectif questionné en se basant sur des critères tels que le sexe, l'âge, le niveau d'instruction, à l'utilisation des pesticides par les agriculteurs en faisant ressortir ceux qui sont les plus employés, au respect des doses, aux choix des produits en fonction de la culture à traiter, ainsi qu'à la consommation.

**Remarque :** A l'issue de cette enquête, nous avons pu faire ressortir les 2 pesticides les plus utilisés dans la région que nous avons par la suite utilisés dans la deuxième partie (*in vitro*).

### **1.1. Position géographique de la zone d'étude**

La wilaya d'El Tarf est localisée à l'extrême nord-est de l'Algérie (latitude 36.767 ; longitude 8.317) à la frontière tunisienne. Cette ville est délimitée par la mer Méditerranée au nord, par la Tunisie à l'est et au sud par la wilaya de Souk Ahras et à l'ouest par la wilaya d'Annaba.

En Algérie, la wilaya d'El-Tarf dispose d'un peu plus de 72 000 hectares. Le rendement varie entre les 15 à 20 quintaux par hectare pour les céréales, les conditions climatiques y jouent, entre autres, un rôle majeur. Le climat de cette zone est du type méditerranéen, caractérisé par deux saisons de six mois chacune, elle fait partie des régions les plus arrosées du Nord-Est Algérien, ce qui favorise l'apparition de maladies cryptogamiques ainsi que le développement d'insectes ravageurs notamment les pucerons.



**Figure 6. Carte géographique d'El-Tarf**

## 1.2. Principales données fournies par la direction de service agricole El-Tarf (DSA02/ 2019)

Les tableaux ci-dessous résument les principales données et informations sur les indicateurs de la wilaya d'El-Tarf fournies par la **Direction du Service Agricole (DSA)** de la wilaya.

**Tableau n°1 : Principaux indicateurs de la wilaya**

<b>Population</b>	<b>Population totale (est .2018)</b>	<b>507784 habitants</b>
	Population rurale (est .2018)	171003 habitants
<b>Superficie</b>	Superficie wilaya	3339 Km2
	Superficie agri.(2018)	84032 ha
	Superficie agri. Utile (2018)	74174 ha
	Superficie en irriguée (2017)	14842 ha

**Tableau n°2 : Production de la wilaya 2018 (pré-bilan)**

Valeur de la production	Classement	Pourcentage	Croissance	
			Taux	Classement
52,6 Milliards DA	28ème	1,6 %	3,1%	26ème

**Tableau n°3 : Surface Agricole Totale et Utile par Daira en hectare (D.S.A EL-TARF, 2018)**

	Daira	Surface agricole utile	Surface agricole totale
1	Besbes	11437	11928
2	Ben M'hidi	16140	18750
3	Drean	10089	10539
4	El-Taref	6555	8064
5	El-kala	3145	4800
6	Bouhadjar	13954	15570
7	Bouthelja	12853	14380
	<b>Total</b>	<b>74173</b>	<b>84031</b>

**Tableau n°4: Surface Agricole Totale et Utile par commune (D.S.A EL-TARF, 2018)**

Commune	Surface agricole utile (SAU)	Surface Agricole Total (SAT)
EL TARF	2147	2282
AIN EL ASSEL	2080	2182
BOUGOUS	860	1400
ZITOUNA	1468	2200
<b>Total Daira El tarf</b>	<b>6555</b>	<b>8064</b>
EL KALA	1040	1500
SOUAREKH	560	900
RAMEL SOUK	800	1200
EL AOUN	745	1200
<b>Total Daira El Kala</b>	<b>3145</b>	<b>4800</b>

BEN MHIDI	6100	8250
EL CHATT	5100	5200
BERRIHANE	4940	5300
<b>Total Daira Ben M'Hidi</b>	<b>16140</b>	<b>18750</b>
BESBES	8575	8750
ASFOUR	1802	2078
ZERIZER	1060	1100
<b>Total DairaBesbes</b>	<b>11437</b>	<b>11928</b>
DREAN	4239	4389
CHBAITA MOKHTAR	3800	3850
CHIHANI	2050	2300
<b>Total DairaDréan</b>	<b>10089</b>	<b>10539</b>
BOUHADJAR	4600	4950
AIN EL KARMA	4744	5120
OUED ZITOUNE	2010	2500
HAMAM BENI SALAH	2600	3000
<b>Total DairaBouhadjar</b>	<b>13954</b>	<b>15570</b>
BOUTELDJA	3000	3500
LAC OISEAUX	4400	4800
CHEFFIA	5453	6080
<b>Total DairaBouteldja</b>	<b>12853</b>	<b>14380</b>
<b>Total Wilaya</b>	<b>74173</b>	<b>84031</b>

**Tableau n° 5: Classement de la wilaya par filière (Unité Quintal sauf précision)**

Filères végétales et animales	Production 2018	Classement et part dans la production nationale de la filière	Par rapport à 2017
<b>Blé dur</b>	488681	24 <sup>ème</sup> avec 1,5% de la PNG	2%
<b>Blé tendre</b>	18000	30 <sup>ème</sup> avec 0,2% de la PNG	26%
<b>Orge</b>	54784	31 <sup>ème</sup> avec 0,3% de la PNG	4%
<b>Avoine</b>	0		0%
<b>Céréales</b>	561465	28 <sup>ème</sup> avec 0,9% de la PNG	3%
<b>Fourrages</b>	778380	23 <sup>ème</sup> avec 1,6%.PNG	8%
<b>Légumes secs</b>	28350	16 <sup>ème</sup> avec 2,1% de la PNG	86%
<b>Tomate industrielle</b>	3500800	2 <sup>ème</sup> avec 22,7% de la PNG	80%
<b>Tabac</b>	73	9 <sup>ème</sup> avec 0,1% de la PNG	30%
<b>Maraichage</b>	1660200	26 <sup>ème</sup> avec 1,2% de la PNG	9%
<b>Pomme de terre</b>	205625	27 <sup>ème</sup> avec 0,5% de la PNG	3%
<b>Oignon</b>	268250	15 <sup>ème</sup> avec 1,9% de la PNG	10%
<b>Raisin</b>	106930	11 <sup>ème</sup> avec 2,1% de la PNG	18%
<b>Agrumes</b>	395100	12 <sup>ème</sup> avec 2,7% de la PNG	1%
<b>Noyaux-pépins</b>	193440	24 <sup>ème</sup> avec 1,2 de la PNG	1%
<b>Oléiculture</b>	48975	33 <sup>ème</sup> avec 0,6% de la PNG	52%

<b>Viandes rouges</b>	104300	19 <sup>ème</sup> avec 2% de la PNG	1%
<b>Viandes blanches</b>	17000	39 <sup>ème</sup> avec 0,3% de la PNG	69%
<b>Lait (1000 L)</b>	55953	24 <sup>ème</sup> avec 1,7% de la PNG	23%
<b>Œufs (1000 U)</b>	9454	36 <sup>ème</sup> avec 0,2% de la PNG	14%
<b>Miel</b>	2500	10 <sup>ème</sup> avec 3,5% de la PNG	4%
<b>Laine</b>	2260	28 <sup>ème</sup> avec 0,6% de la PNG	9%

**\*PNG : Production National Globale**

### **1.3. Déroulement de l'enquête**

#### **1.3.1. Population de l'étude**

Nous avons interrogé 70 agriculteurs de la wilaya d'El-Tarf, répartis sur les 7 Daïras : 10 pour chaque daïra, et ce par l'intermédiaire du président de l'union des agriculteurs de la wilaya d'El-Tarf. Le questionnaire a été réalisé en plusieurs étapes (Annexe 1).

Nous avons d'abord entamé notre questionnaire par le recensement des différents pesticides utilisés dans la région afin de ressortir ceux qui sont fréquemment utilisés par les agriculteurs. Par la suite, nous avons testé le questionnaire les agriculteurs pour savoir si les questions étaient compréhensibles et si le remplissage était facile et pas trop long. L'étude s'est déroulée entre le 15 juillet 2019 et le 15 décembre 2019.

#### **1.3.2. Le questionnaire**

Cette enquête a été réalisée à l'aide d'un questionnaire formulé sur 3 pages et constitué de 26 questions, divisé en trois parties :

##### **✚ Première partie : les données sociodémographiques**

L'objectif de cette partie est de connaître si l'échantillon est représentatif de la population agricole mais aussi s'il existait des différences de pratique en fonctions des différents critères. Nous avons pris en compte le sexe, l'âge, le niveau d'études, le statut de l'ouvrier, l'ancienneté et le type d'exploitation.

##### **✚ Seconde partie : utilisation des pesticides**

Dans cette partie nous nous sommes intéressés à l'utilisation des pesticides par les agriculteurs en se basant sur certains aspects tels que la lecture de l'étiquette qui se trouve sur le produit, le respect des consignes d'hygiène, la connaissance des directives d'utilisations et

autres (voir annexe). Les réponses obtenues sont présentées sous la forme d'une échelle de fréquence :

### Fréquent- Parfois- Rarement

#### ✚ Troisième partie : Toxicité des produits phytosanitaires

Les agriculteurs ont été interrogés sur leurs connaissances sur la toxicité des pesticides utilisés ainsi que sur leur ressenti concernant leur formation sur ces produits. Nous leur avons également demandé s'ils ont déjà été victimes d'un effet indésirable.

## 2. Evaluation de la toxicité de deux pesticides (in vitro) chez deux modèles biologiques

### 2.1. Matériel chimique

L'enquête réalisée auprès des agriculteurs de la wilaya d'El-Tarf nous a conduits à choisir 2 pesticides : un insecticide et un fongicide qui figuraient dans la liste des pesticides les plus fréquemment utilisés par les agriculteurs. Il s'agit du **Decis 25 EC** et le **Prosoaro XRT**.

#### 2.1.1. Le Decis 25 EC

Le Decis 25 EC est commercialisé par la compagnie Bayer Corp Science (N° : R12052011). C'est un insecticide systémique qui agit par contact ou par ingestion sur de nombreux insectes et dont la matière active est la Deltaméthrine (25g/L). Mis au point en 1974, il appartient à la famille des Pyréthrinoides de synthèse de type II. Il est utilisé comme insecticide et répulsif en raison de ses propriétés neurotoxiques car il perturbe la conduction de l'influx nerveux et modifie la cinétique de fonctionnement du canal sodium. La deltaméthrine est considérée comme la plus toxique des pyréthrinoides, car elle n'est ni jamais complètement dégradée ni rapidement métabolisée et de ce fait s'accumule dans les lipides (Sayed *et al.*, 2003).

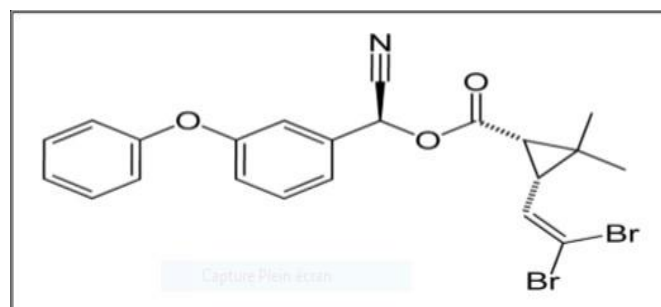
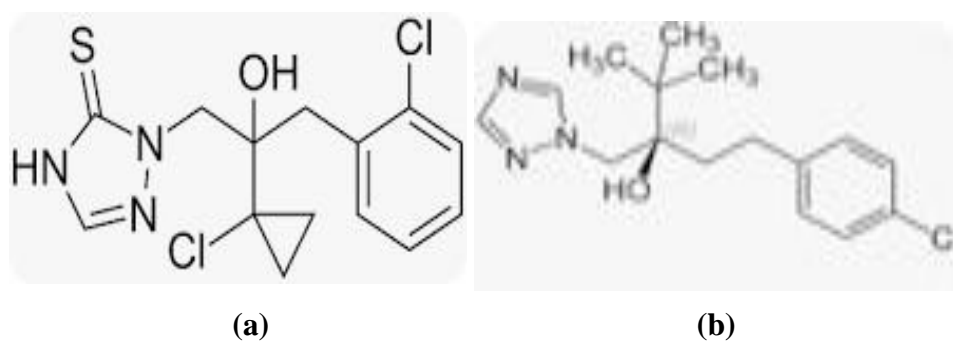


Figure 7. Structure moléculaire de la Deltaméthrine

### 2.1.2. Le Prosaro XRT

Le Prosaro XRT est un nouveau fongicide systémique à base de *Prothioconazole*, nouvelle molécule issue de la recherche, associée au *Tebuconazole*. Il est commercialisé par la compagnie Bayer Corp Science (N°: 32824). Il s'agit donc d'une association de deux matières actives à concentrations égales soit : 125 g/L de *Prothioconazole* et 125 g/L de *Tebuconazole*. Formulée en concentré émulsionnable (EC) pour le contrôle des maladies foliaires du blé. Il est homologué en Algérie à la dose de 0.8 L/ha pour le contrôle des maladies des feuilles et de l'épi du blé comme les rouilles, la septoriose, l'oïdium. Il est à appliquer du stade « sortie de la dernière feuille » au stade « dernière feuille étalée ».

Ces deux matières actives appartiennent à la famille des Triazoles. Ces derniers agissent en inhibant l'activité du lanosterol 1-4- $\alpha$ -déméthylase (cytochrome P450), induisant ainsi la perturbation de la synthèse de l'ergostérol qui est un élément fondamental des membranes cellulaires fongiques (**Ghannoum and Rice, 1999**). L'évaluation du risque écologique menée par **Wang et al., (2011)** a montré la persistance prolongée des triazoles dans l'environnement qui est due à leur faible volatilité, leur faible biodégradabilité ainsi qu'à une forte stabilité photochimique.



**Figure 8. Structure plane du Prothioconazole (a) et Tebuconazole (b)**

#### Concentrations utilisées

Concernant les concentrations, nous avons choisi la dose recommandée en plein champs pour chaque pesticide ainsi que son double. Des combinaisons ont été également réalisées.

- ✓ Dose recommandée pour le Prosaro XRT = **0.8 L/ha**
- ✓ Dose recommandée pour le Decis EC 25 = **1L/ha**

**Tableau n°6 : Concentrations utilisées pour les vers de terre (extrapolation sur la surface des terrarium)**

Unité en mg/kg de sol sec	P1	P2	D1	D2	P1/D1	P2/D2
Prosaro XRT	6.93	13.86				
Decis EC 25			8.66	17.32		
Prosaro XRT/ Decis EC25					6.93/8.66	13.86/17.32

**Tableau n°7 : Concentrations utilisées pour le blé (extrapolation sur la surface des alvéoles)**

Unité en mg/kg de sol sec	P1	P2	D1	D2	P1/D1	P2/D2
Prosaro XRT	0.66	1.32				
Decis EC 25			0.83			
Prosaro XRT/ Decis EC25				1.66	0.66/0.83	1.32/1.66

## 2.2. Matériel biologique utilisé

### 2.2.1. Blé dur : *Triticum durum* Desf

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est le Blé dur : *Triticum durum* Desf ; pour cela nous avons choisi une variété appelée : Siméto afin de relever les modifications physiologiques et biochimiques au niveau cellulaire de la plante face à au stress chimique appliqué. Les échantillons utilisés sont fournis par le marché local de l'Office Algérienne Interprofessionnelle des céréales (OAIC) d'EL Hadjar, Annaba. Le blé dur est une monocotylédone qui obéit à la classification représentée dans le tableau en dessous.

### 2.2.2. Le Ver de terre : *Aporrectodea Caliginosa*

Le deuxième modèle biologique utilisé dans notre étude est le ver de terre *Aporrectodea Caliginosa* dont la classification est mentionnée ci-dessus.

**Tableau n°8 : Classification d'*Aporrectodea Caliginosa***

Règne	Animalia
Embranchement	Annelidae
Classe	Clitellata
Sous-classe	Oligochaeta
Ordre	Haplotaxida
Famille	Lumbricidea
Genre	<i>Aporrectodae</i>
Espèce	<i>Aporrectodae Caliginosa</i> (Savigny, 1826)

## 2.3. Conduite de l'essai

### 2.3.4. Cas du blé dur

#### a. Traitement des graines

Les graines de blé ont été désinfectées avec un mélange d'eau oxygénée et eau distillée (1ml eau oxygénée 10V avec 9ml d'eau distillée) durant 5min puis rincées abondamment avec de l'eau distillée. Pour faciliter et accélérer la germination, les graines ont été déposées au réfrigérateur dans de l'eau distillée pendant 24h (la vernalisation).

#### b. Préparation du semis

Des alvéoles en plastique ont été remplis par une quantité de mélange sable/terreau (2 Volume de sable /1volume de terreau) auxquelles on rajoute 3 graines par alvéole. Avant la mise en alvéoles du substrat, le fond des alvéoles est tapissé par une couche de graviers afin d'assurer le drainage.

Un arrosage a été réalisée avec de l'eau distillée 2 fois par semaine, à raison de 2 ml /alvéole jusqu'au développement des plantules.



**Figure 9. Préparation du semis**

#### c. Fertilisation

Un amendement en sels minéraux est assuré tous les 15 jours par l'ajout d'une solution nutritive (**Hoshang, 1988**) et dont la composition est représentée en annexe.

#### d. Application du stress

Le stress chimique a été appliqué à partir du stade de 2-3 feuilles c'est-à-dire à peu près après 4 semaines du semis, une partie reste irriguée périodiquement et sans traitement : il s'agit du témoin.

Le traitement des plantules avec les différentes concentrations de Decis et de Prosaro ainsi que leur combinaisons (Decis/Prosaro) ont été réalisés selon le même protocole suivi en plein champs de blé par les agriculteurs afin de prévenir les maladies cryptogamiques et limiter les invasions de criquets et de pucerons. Le Prosaro est appliqué en premier suivi par le Decis à intervalle d'un mois et ce en utilisant deux concentrations pour chaque produit (tableau n° 6 et 7).



**Figure 10. Application du stress (photo personnelles)**

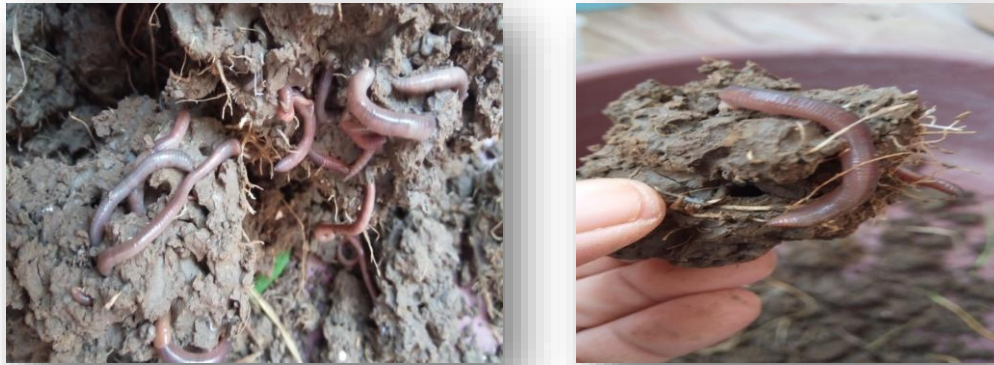
#### 2.3.5. Cas du ver de terre

##### a. Collecte des vers de terre

La collecte des vers de terre a été effectuée dans la forêt de Seraidi ( $36^{\circ} 55'$  Nord,  $007^{\circ} 40'$  Est) située au Nord de la ville de Annaba, sur les hauteurs du massif de l'Edough à 850 mètres d'altitude et à 13.3 Km du centre-ville. Cette zone a été choisie car elle représente une zone témoin loin de toutes sources de pollution industrielle ou agricole (**Guessasma et al., 2020**).

L'échantillonnage a été effectué par la méthode de prélèvement par tri manuel (**Schreck, 2008**), qui reste le plus fiable, facile à mettre en œuvre et reproductible. Les prélèvements ont été effectués sur une période qui s'étale entre décembre 2019 et fin Février 2020, car les conditions climatiques sont favorables et propices pour la répartition de la

totalité des espèces faunistiques et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère (Ramade, 1984, Rakotomanga et al., 2016).



**Figure 11. Récolte des vers de terre (photo personnelle)**

Les échantillons prélevés sont ensuite transportés au laboratoire où un deuxième tri a été réalisé dans lequel nous avons gardé que les vers de terre qui avaient le même aspect, un clitellum bien développé, la même couleur ainsi qu'une longueur et poids similaires pour que l'essai soit homogène.



**Figure 12. Deuxième tri des vers de terre (photo personnelle)**

### **b. Identification de l'espèce**

L'identification a été effectuée au laboratoire sur la base des caractéristiques morphologiques que nous avons citées auparavant à savoir la longueur, la gradation de couleur, le nombre et la disposition des segments (Kurthe and Kier, 2015). Dans une deuxième étape, les vers de terres ont été fixés au formol à 4% et identifiées selon les caractéristiques externes et internes de Bouché (1972) à l'aide d'un microscope binoculaire.



**Figure 13. Ver de terre sélectionné (Photo personnelle)**  
(Longueur varie entre 150 et 200 mm ; Poids varie entre 0.7 et 1.5 g)

### **c. Préparation des terrariums**

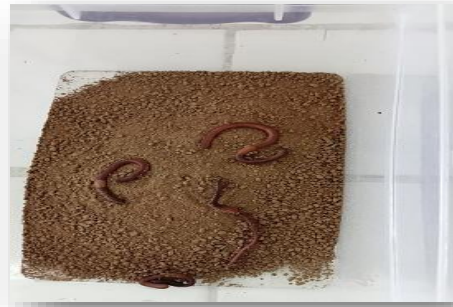
La terre prélevée à Seraidi a été séchée durant une semaine, ensuite bien tamisée et effritée. Elle a été par la suite placée dans des contenants à raison de 300g par boîte. Un ver a besoin de 100g de terre pour survivre pendant un mois, ainsi cette quantité de sol (300g) est suffisante pour la survie de 3 vers de terre. Les boîtes utilisées possèdent 20cm de longueur et 13 cm de largeur (260 cm<sup>2</sup>). Le couvercle des boîtes a été perforé afin de permettre l'aération dans le contenant.



**Figure 14. Mise en boîte (Photo personnelle)**

Les vers terre sélectionnées sont par la suite mis à jeun durant 3-4 jours sur papier absorbant. Ils sont maintenus humide et à l'obscurité. Cette étape est nécessaire pour que les vers de terre vident leur tube digestif et soient ainsi prêt à être mis en expérimentation.

Les vers de terre sont par la suite pesés et déposés dans les différents contenants à raison de 3 vers de terre par boîte. Pour chacune des boîtes, la terre est ré-humidifiée avec de l'eau distillée chaque fois que c'est nécessaire.



**Figure 15. Préparation des terrariums (Photo personnelle)**

#### **d. Application de stress**

Le traitement des vers de terre est effectué par pulvérisation des différentes concentrations du Prosaro, du Decis et des combinaisons dans les terrariums. La terre est bien malaxée et mélangée avec la solution de pesticide afin de garantir une homogénéité de la contamination.

Les terrariums sont placés dans une pièce obscure à température ambiante (20°C) pour une période de 14 jours. Tous les dosages ont été effectués après 7 jours et 14 jours d'exposition aux produits. Au cours du test, il faut vérifier si le milieu conserve suffisamment son humidité ; S'il y a lieu, il faut réhydrater.

L'expérimentation compte 7 terrarium :

- Terrarium 1 : Témoin (terre +eau distillée+ vers de terre)
- Terrarium 2 : bac contaminé par la 1<sup>ère</sup> concentration du Prosaro**P1**(dose recommandée).
- Terrarium 3 : bac contaminé par la 2<sup>ème</sup> concentration du Prosaro**P2** (double de la dose recommandée)
- Terrarium4 : bac contaminé par la 1<sup>ère</sup> concentration deDecis**D1** (dose recommandée)
- Terrarium5 : bac contaminé par la 2<sup>ème</sup> concentration deDecis**D2** (double de la dose recommandée)
- Terrarium 6 : bac contaminé par la 1<sup>ère</sup> concentration du traitement combiné Prosaro/Decis (**P1/D1**)
- Terrarium7 : bac contaminé par la 2<sup>ème</sup> concentration du traitement combiné Prosaro/Decis(**P2/D2**).
-

## **Remarque**

Sur la parcelle, les pesticides (fongicides et insecticides) sont appliqués directement sur les feuilles (la dose appliquée est donnée en L/ ha). Dans le cas de notre contamination en terrarium, nous avons considéré que la totalité de ce qui est appliqué par hectare tombait au sol. La dose appliquée prend pour référence la surface du dessus du terrarium (260 cm<sup>2</sup>), mais le traitement est ensuite homogénéisé à toute la terre du terrarium afin d'avoir des conditions homogènes. Dès lors, les expositions sont maximisées par rapport à la réalité de la parcelle. Il s'agit en effet d'une extrapolation de la « réalité » même si les doses employées restent des doses homologuées.

### **2.4. Paramètres mesurés**

#### **2.4.1. Paramètres physiologiques**

##### **A. Dosage des chlorophylles chez les feuilles de blé dur**

Pour le dosage des chlorophylles, nous avons procédé à l'extraction de ces composés selon la technique de **Holden, (1975)**. Il s'agit de la macération du végétal dans de l'acétone où 1g des feuilles sont coupées en petits morceaux et broyées avec 20ml d'acétone à 80% ainsi que 100mg de bicarbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>). Une filtration des solutions obtenues est réalisée qui sont par la suite déversées dans des boîtes opaques afin d'éviter l'oxydation des chlorophylles par la lumière. Après étalonnage du spectrophotomètre, la lecture est effectuée à deux longueurs d'onde 645nm et 663nm.

##### **B. Pourcentage de mortalité et taux de croissance des vers de terre**

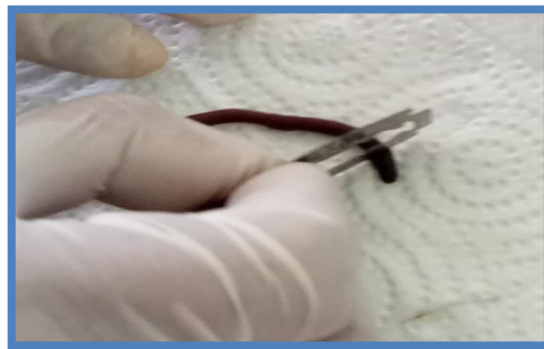
Un comptage journalier du nombre de vers de terre morts a été effectué afin de déterminer le pourcentage de mortalité. Pour le taux de Croissance, il s'agit de peser les vers après chaque période de traitement. Le taux de croissance est déterminé en utilisant l'équation de Martin (1986).



**Figure 16. Pesée et vérification de mortalité (Photo personnelle)**

#### **2.4.2. Paramètres biochimiques**

Les mêmes paramètres biochimiques ont été effectués pour les deux modèles biologiques sauf pour l'Acétylcholine Estérase qui concerne uniquement les vers de terre. Concernant les vers de terre, il a fallu procéder à une dissection de l'animal en plusieurs fragments après chaque période de traitement (7 et 14 jours). Avant cette étape, les vers de terre sont mis à jeun pendant 48 heures afin de vider leur tube digestif.



**Figure 17. Dissection des vers de terre pour les dosages (Photo personnelle)**

##### **A. Dosage des protéines totales**

Pour réaliser ce paramètre, nous avons suivi le protocole de Bradford, 1976 basé sur la colorimétrie. Cette méthode est basée sur la liaison du colorant BBC (bleu brillant de coomassie) avec les résidus basiques et aromatique des protéines ce qui provoque le transfert de sa couleur qui passe du rouge au bleu. La lecture est effectuée à une longueur d'onde de 595nm par spectrophotomètre (JENWAY 3600) en utilisant l'albumine Sérum bovine (BSA) comme standard.

## **B. Dosage du glutathion (GSH)**

Pour la quantification des teneurs de glutathion (GSH) nous avons utilisé la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**. L'étalonnage du spectrophotomètre est effectué en utilisant un blanc dans lequel nous avons remplacé les 500  $\mu$ l du surnageant par 500  $\mu$ l d'eau distillée. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur.

## **C. Mesure de l'activité Catalase (CAT)**

Le suivi de l'activité Catalase (CAT) chez le blé a été effectué selon le principe de **Cakmak et Horst, (1991)**. Prendre 100 $\mu$ l de l'extrait enzymatique brut obtenu auquel on rajoute 50 $\mu$ l de peroxyde d'hydrogène et 2850 $\mu$ l tampon phosphate. La méthode de **Regoli and Principato (1995)** a été utilisée pour déterminer l'activité CAT chez les vers de terre. Le mélange réactionnel est composé de 20 $\mu$ l de l'extrait enzymatique, 200 $\mu$ l de peroxyde d'hydrogène et 780 $\mu$ l de tampon phosphate pour un volume final de 1 ml. La réaction est déclenchée par l'ajout de l'eau oxygéné ( $H_2O_2$ ). La décroissance de l'absorbance est enregistrée durant une minute pour une longueur d'onde de 240 nm et un coefficient d'extinction  $\epsilon=39400 M^{-1} \cdot cm^{-1}$ . L en utilisant un spectrophotomètre (Jenway).

## **D. Mesure de l'activité Glutathion S -Transférase (GST)**

La méthode de Habig et *al.*, (1974) a été utilisée pour le suivi de l'activité GST. L'extrait enzymatique est obtenu après homogénéisation des tissus (végétal et animal) par un tampon phosphate (0.1 M, pH 6) et une centrifugation à 14000g pendant 30min. 200 $\mu$ l de cet extrait sont mélangé avec 1.2ml du tampon phosphate contenant du CDNB (1mM, pH 6) et du GSH (5mM). Pendant 5 min, la lecture est réalisée chaque minute à une longueur d'onde de 340 nm et les résultats sont exprimés en  $\mu$ mol/min/mg de protéines.

## **E. Mesure de l'activité Lipoxygénase (LOX)**

L'activité lipoxygénase a été déterminé par la méthode décrite par **Axerold et al., (1981)**. Elle est basée sur la mesure de l'absorbance des hydroperoxydes à une longueur d'ondes de 234 nm par un spectrophotomètre (Jenway) et avec un coefficient d'extinction molaire  $\epsilon=25 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Le substrat utilisé pour le dosage est l'acide linoléique (LNA).

Pour le blé, après broyage (tampon phosphate+ cystéine + EDTA) et centrifugation (14000g durant 20 min), le surnageant récupéré (1 ml) est ajouté au milieu réactionnel composé de 0.16% tween-20 (v/v), tampon glycine à (0.2M, pH 10), 100mM acide linoléique (LNA).

Pour les vers de terre, le milieu d'extraction contient du tampon phosphate auquel on ajoute le metabisulfite de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) et du Tween 20. A partir de ce tampon d'extraction, on prend 0.75ml auquel on rajoute 0.25g du tissu animal broyé auparavant par ultrason. Le mélange est incubé durant une heure de temps dans de la glace et en le passant au vortex toutes les 10min puis il est centrifugé à 13000g ( $4^\circ$ ) pendant 10min. le surnageant est utilisé pour le dosage de l'activité. Dans une cuvette en quartz de 3 ml, 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait enzymatique sont ajoutés à 2,93 ml de tampon phosphate (0,1 M pH 7.0) : cette solution sert de référence. La réaction catalysée par cette enzyme étant une oxydation, le tampon est au préalable oxygéné pendant 20 minutes et amené à la température de  $30^\circ\text{C}$ . 7  $\mu\text{l}$  de l'acide linoléique (7  $\mu\text{M}$ ) sont ensuite ajoutés et l'apparition des hydroperoxydes est mesurée pendant 3 minutes.

## **F. Dosage de l'activité acétylcholinestérase (AChE)**

La méthode suivie pour ce dosage est celle **d'Ellman et al., (1961)**. L'extrait enzymatique est obtenu après homogénéisation à l'ultrason des têtes des vers de terre et centrifugation (5000 g pendant 5 min). Un aliquote de 100 $\mu\text{l}$  du surnageant est ajouté à 100 $\mu\text{L}$  du DTNB et 1ml du tampon Tris (0.1M, pH 7). Après 3 à 5 min, 100 $\mu\text{l}$  du substrat d'acetylthiocholine sont ajoutés afin d'épuiser la réaction spontanée. La lecture est effectuée toutes les 4 min pendant 20min à une longueur d'onde de 412 nm par un spectrophotomètre (Jenway 3600) contre un blanc dépourvu de l'extrait enzymatique. L'activité AChE est calculée selon l'équation ci-dessous où les résultats sont exprimés par  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine.

### 2.4.3. Analyse statistique

Tous les résultats obtenus lors de cette étude ont fait l'objet d'une analyse statistique en utilisant le logiciel Minitab 21. Les valeurs des résultats ont été rapportées sous forme de moyenne plus au moins l'écart type ( $m \pm SD$ ).

Les données ont été analysées à l'aide de l'analyse de variance bidirectionnelle c'est à dire à deux critères de classification (ANOVA 2) pour évaluer les différences liées aux effets de deux variables indépendantes (concentration et temps) sur une variable dépendante (paramètre).  $P \leq 0.05$  a été établi comme une différence significative.

Un test post-hoc -Test de Tukey- a été utilisé pour déterminer des différences significatives entre les différents groupes.

## ***CHAPITRE III. RESULTATS***

## **I. Evaluation du risque lié à l'utilisation des pesticides**

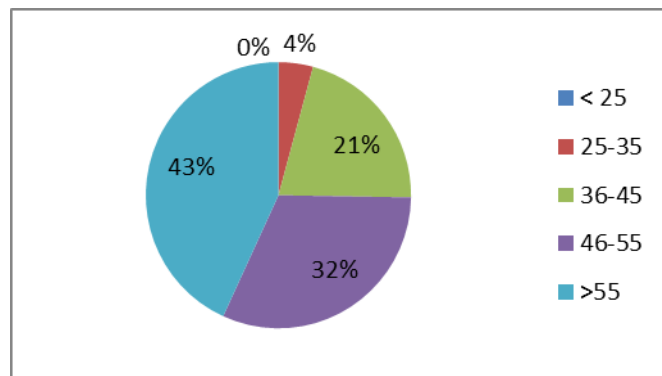
### ***1.1. Données sociodémographiques***

#### ***1.1.1. Répartition des agriculteurs selon le sexe***

Afin de relever des différences de pratique entre homme et femmes, nous avons donc entamer notre questionnaire par la répartition des agriculteurs selon le sexe. Cependant, nous n'avons pu interroger aucune femme et ainsi il a été difficile pour nous de comparer cette différence entre les deux sexes. Ainsi, le nombre total d'agriculteurs interrogés dans les 7 Daïra de la wilaya d'El-Tarf est de 70.

#### ***1.1.2. Répartition des agriculteurs selon la tranche d'âge***

Les résultats de l'enquête obtenus concernant la tranche d'âge des agriculteurs exerçant dans les 7 daïras de la wilaya El-Tarf sont résumés ci-dessous.



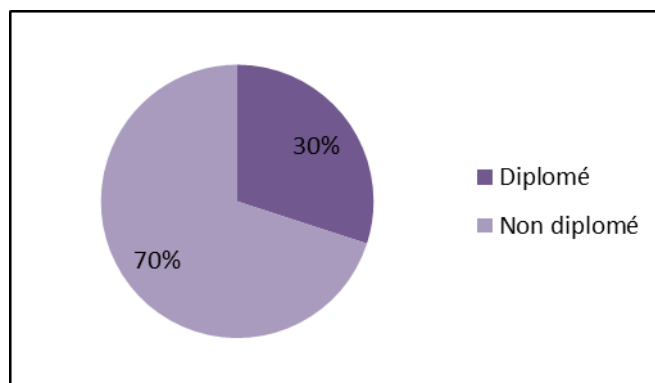
**Figure 18. Répartition des agriculteurs interrogés selon la classe d'âge**

D'après ces résultats, on remarque que 43% des agriculteurs ont plus de 55 ans, 32% sont âgés de 46 -55 ans, 21% entre 36-45%. La tranche la moins représentée est celle des agriculteurs âgés entre 25 et 35 ans. Les moins de 25 ans représentent 0%. On constate ainsi que les plus jeunes (les moins de 25 ans) ne sont pas intéressés par l'agriculture et ce dans toute la wilaya d'El-Tarf.

### **1.1.3.**

### **Répartition selon le niveau d'étude**

Cette question avait pour but de voir si le parcours scolaire des agriculteurs avait une influence sur leur comportement vis-à-vis des pesticides. Les résultats sont représentés dans la figure ci-contre.



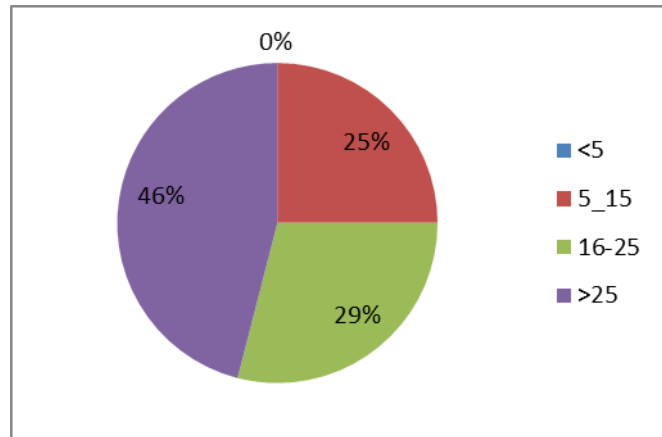
**Figure 19. Répartition des agriculteurs selon le niveau d'étude**

On constate que 70% des agriculteurs sont non diplômés. D'après les données disponibles, la majorité des exploitants ayant subi une formation agricole se trouvent dans les Daira de Bouhajar (7) et El-Tarf (6). Le reste des dairas comptent entre 1 et 2 diplômés. Les diplômes retrouvés sont : **2** ingénieurs agricole, **1** Technicien supérieur en agriculture, **10** techniciens en agriculture, **2** attestations agricoles INPV, Certificat d'excellence INPV, **1** attestation de responsable de protection des végétaux, **5** niveau terminal.

### **1.1.4.**

### **Répartition selon le nombre d'années exercées**

Cette question avait pour objectif de déterminer si les agriculteurs qui ont de nombreuses années d'exercice n'ont pas tendance à prêter moins d'attention aux bonnes pratiques et à banaliser les risques encourus suite à une mauvaise utilisation des pesticides.

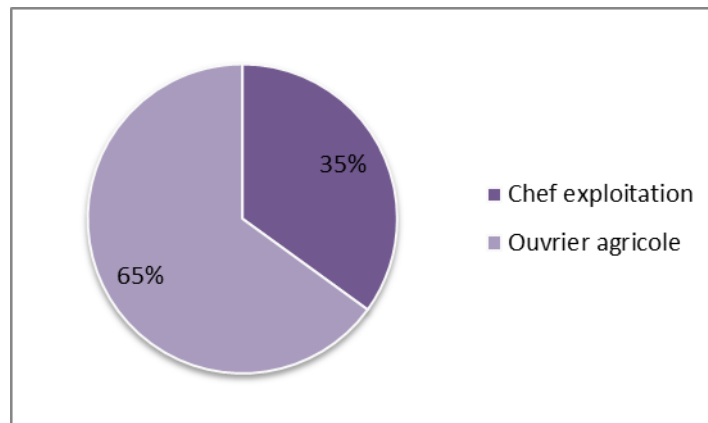


**Figure 20. Répartition des agriculteurs selon l'ancienneté**

D'après les résultats obtenus, on constate que 46% des agriculteurs exercent leurs métiers depuis plus de 25 ans. 29% travaillent depuis 16-25 ans et 25% entre 5-15. Il n'existe aucun agriculteur dont l'ancienneté est inférieure à 5 ans.

#### ***1.1.5. Répartition selon le statut de l'agriculteur***

Dans le but de relever des différences de pratique entre le chef d'exploitation et l'ouvrier, nous avons donc posé cette question. On pourrait supposer que l'ouvrier prend plus de précautions dans son travail que le chef d'exploitation.

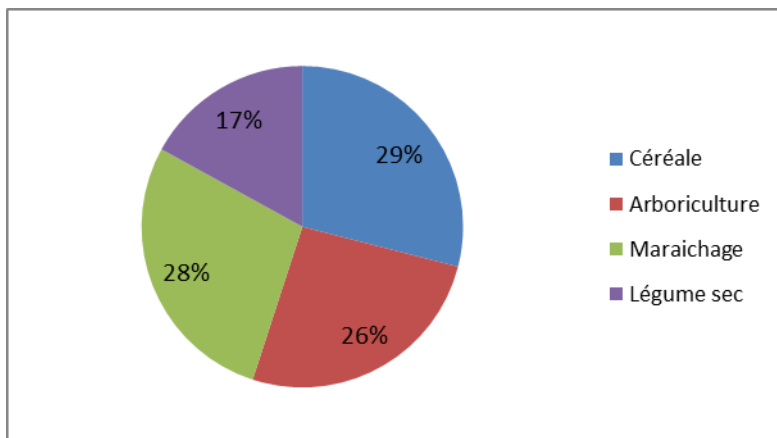


**Figure 21. Répartition des agriculteurs selon leurs statuts**

On constate que sur les 7 Dairas de la wilaya d'El-Tarf, 65% des agriculteurs interrogés sont des ouvriers contre 35% chefs d'exploitation.

### **1.1.6. Répartition des agriculteurs en fonction des cultures**

Cette question avait comme objectif de mettre en évidence la répartition des agriculteurs selon les différentes cultures dans les 7 dairas de la wilaya d'El-Tarf.



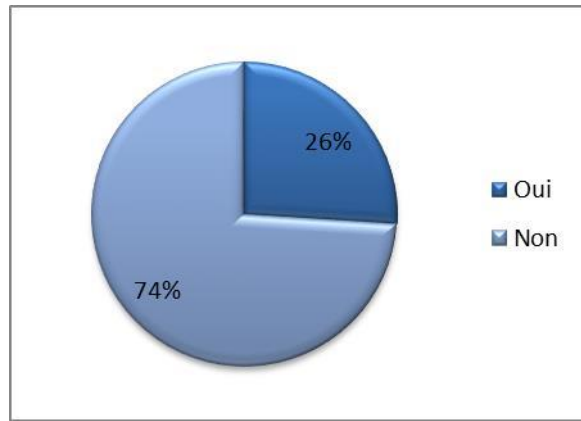
**Figure 22. Répartition des agriculteurs selon la culture**

D'après cette figure (31), on constate que 29% des agriculteurs interrogés travaillent dans des champs de céréales, 28% en cultures maraichères, 26% en arboriculture et 17% dans les champs de légumes secs.

### **1.1.7. Répartition des agriculteurs en fonction de leur état de Fumeur**

Cette question a été posée aux agriculteurs pour voir si les effets indésirables rencontrés chez ces derniers sont dus à l'exposition des pesticides seulement ou bien sont combinés aux effets néfastes de la cigarette. Les données sont représentées dans la figure 32. On constate que 26% des agriculteurs sont fumeurs et le reste soit 75% ne le sont pas. Ce pourcentage est intéressant pour nous puisque nous allons lier la majorité des effets indésirables à l'exposition et non pas à la cigarette. Parmi les fumeurs, on note :

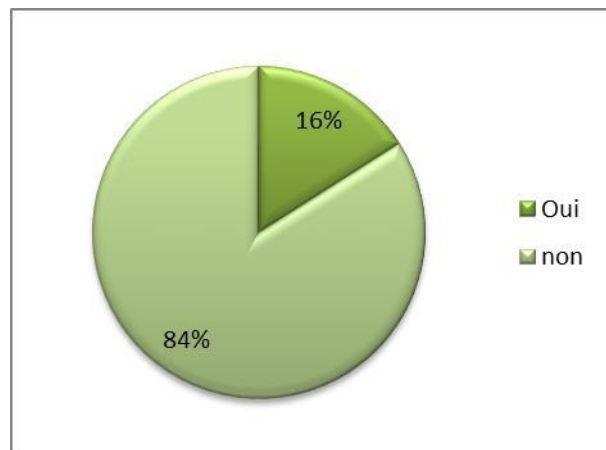
- ✓ 1 agriculteur fume depuis < 5 ans à Drean
- ✓ 3 depuis 6-10 ans à Besbes et Dréan
- ✓ 5 depuis 11-15 ans à Besbes, Ben'mhidi, El-Tarf
- ✓ 1 depuis 16-20 ans à Bouhadjar
- ✓ 5 depuis >20 ans



**Figure 23. Répartition des agriculteurs selon l'état de fumer**

### ***1.1.8. Maladies chroniques***

Grace à cette question, on voulait savoir s'il y'avait des pathologies concomitantes avec la cigarette et l'exposition aux pesticides afin de déceler l'origine des effets indésirables. Sur les 70 agriculteurs interrogés, seulement 16% sont atteints de maladies chroniques. 5 personnes souffrent de maladies cardiovasculaires, 5 endocrinienne et 1 personne de maladie respiratoire. Les 84 % restant déclarent être sains.



**Figure 24. Répartition des agriculteurs selon leurs états de santé**

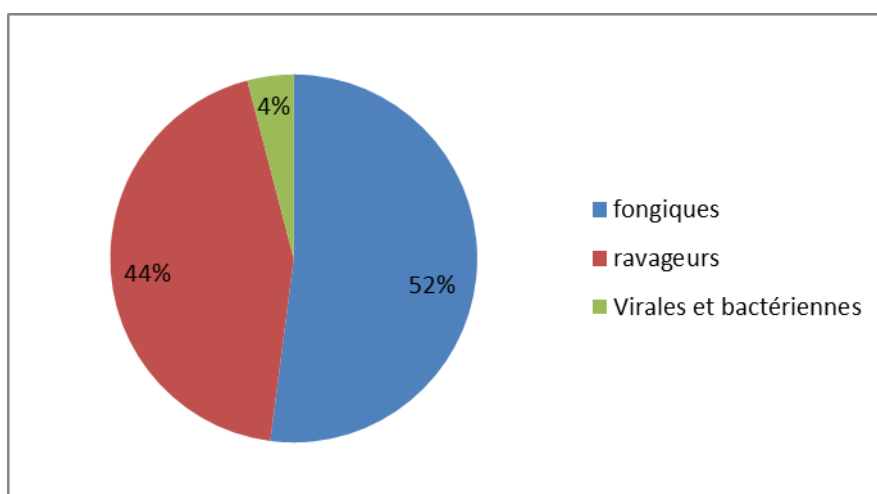
## 1.2.

### *Données relatives à l'emploi des pesticides*

#### 1.2.1.

#### *Maladies rencontrées dans les parcelles*

Les 70 agriculteurs de la région ont été interrogés sur les différentes maladies et ravageurs rencontrés dans les parcelles. On remarque que les maladies fongiques sont dominantes dans la région et représentent 52% des maladies rencontrées dans les parcelles (Figure 34). Ces maladies sont très fréquentes à Benmhidi, Besbes, Dréan et El-kala, suivi par El-Taref, Bouteldja et Bouhajar. Cette région du pays est connue par la pluviométrie ainsi que l'humidité favorisant ainsi l'apparition de maladies cryptogamiques. Les maladies les plus cités sont : le mildiou, l'oïdium, la fusariose, la Septeriose et la rouille jaune.



**Figure 25. Maladies rencontrées dans les parcelles**

Parallèlement, on constate que 44% des maladies rencontrées sont provoquées par des ravageurs des cultures telles que la mouche blanche, le puceron, la mouche méditerranéenne et les acariens. Les dairas de Besbes, Benmhidi et Dréan sont celles qui sont les plus touchées car le milieu est e au développement des insectes du fait de la densité du couvert végétal.

Les 4% restant représentent des maladies bactériennes et virales. D'après les agriculteurs interrogés la propagation de ces maladies varie selon la saison (de juin à septembre) et selon les conditions climatiques.

### 1.2.2. Utilisation des pesticides

Les données obtenues concernant l'utilisation des pesticides sont illustrées dans la figure n°35. On constate que 93% des agriculteurs interrogés utilisent les pesticides dans les champs. Seulement 5 agriculteurs (7%), qui travaillent dans les exploitations d'El-kala, n'utilisent pas de pesticides et ce en raison de la toxicité qu'ils exercent sur l'environnement et la santé.

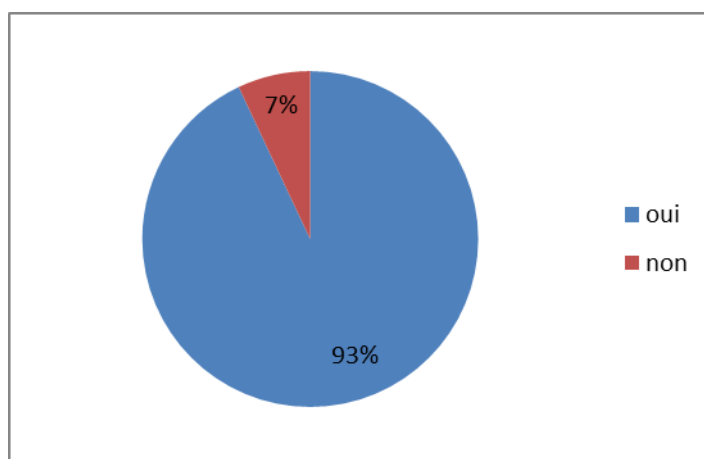


Figure 26. Répartition des agriculteurs selon l'utilisation des pesticides

### 1.2.3. Pesticides les plus utilisés par les agriculteurs interrogés

D'après les agriculteurs interrogés (tableau 11), on constate que les fongicides, insecticides et herbicides sont les produits phytosanitaires les plus utilisés ce qui est en adéquation avec la question précédente.

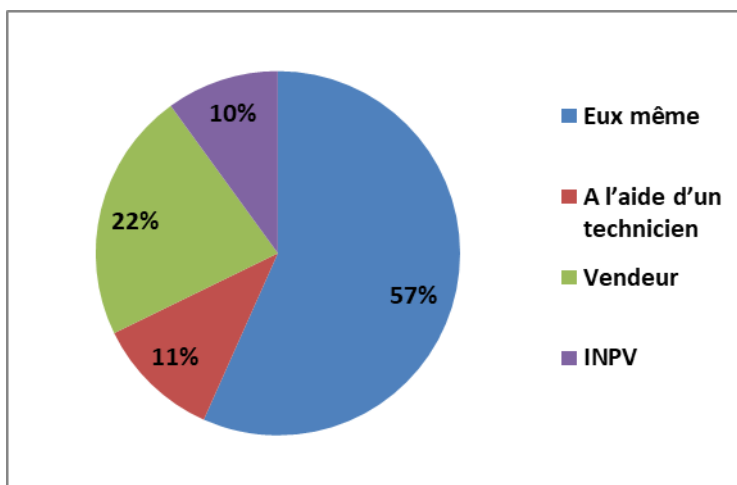
Tableau n°9. Les pesticides les plus utilisés par culture

Culture	Pesticides utilisés		
	Insecticide	Fongicide	Herbicide
Arboriculture	Deltamethrine	Foséthyl-aluminium	Glyfosate
Céréale	Deltamethrine	Prosaro	Cossack sekator
Culture Maraichère	Caraté Cypermethrine	Foséthyl-aluminium	Sencor: Métribuzine
Légume sec	Deltamethrine	Prosaro	Challenge

On remarque également que la Deltamethrine est l'insecticide le plus utilisé et le Prosaro pour les fongicides.

#### ***1.2.4. Le choix des pesticides***

Dans la figure 36, sont illustrées les données relatives au choix des pesticides par les agriculteurs. 57% des agriculteurs déclarent choisir les pesticides par eux même.

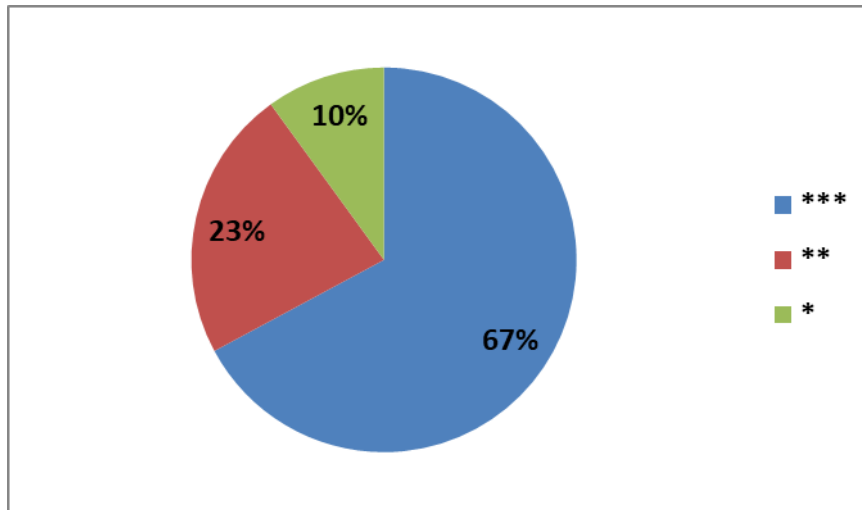


**Figure 27. Répartition des agriculteurs selon le choix du pesticide**

22% des agriculteurs déclarent demander l'avis des vendeurs de pesticides. 11% déclarent avoir recours à un technicien pour le choix de produits adéquats et 10% demandent des conseils aux ingénieurs de l'INPV (institut national de la protection des végétaux).

#### ***1.2.5. Lecture d'étiquettes des pesticides***

Pour utiliser correctement un produit phytosanitaire, il est impératif de bien lire les étiquettes qui se trouvent dessus. Celles-ci précisent les dangers potentiels du produit et présentent des conseils de prudence à respecter (figure 37). On remarque que 67% des agriculteurs interrogés lisent rarement l'étiquette du pesticide employé. 23% prétendent lire parfois les étiquettes et seulement 10% déclarent les lire fréquemment.

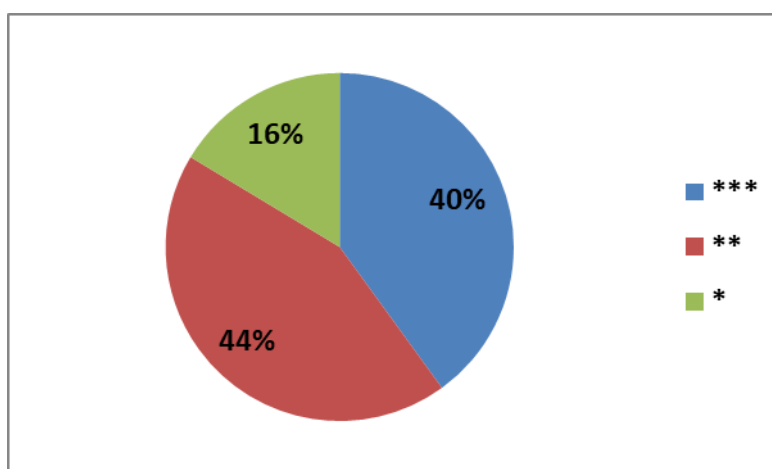


**Figure 28. Répartition des agriculteurs selon le respect de la lecture d'étiquette**

### ***1.2.6. Utilisation des équipements de protection individuelle (EPI)***

Les équipements individuels de protection (EPI) sont définis par le Code du travail comme des « dispositifs ou moyens destinés à être portés ou tenus par une personne en vue de la protéger contre un ou plusieurs risques susceptibles de menacer sa santé ou sa sécurité » (INERIS). L'emploi d'un EPI est obligatoire lorsqu'il est mentionné sur l'étiquetage : les expositions sont multiples (orales, respiratoires, cutanées, oculaires), avec des risques d'ingestion, d'inhalation, de contact et de projection. Ainsi les EPI préconisés sont les gants, une combinaison, un masque respiratoire et des lunettes.

Les données relatives à l'utilisation des EPI par les agriculteurs des 7 dairas de la région d'El-Tarf sont illustrées dans la figure 29.

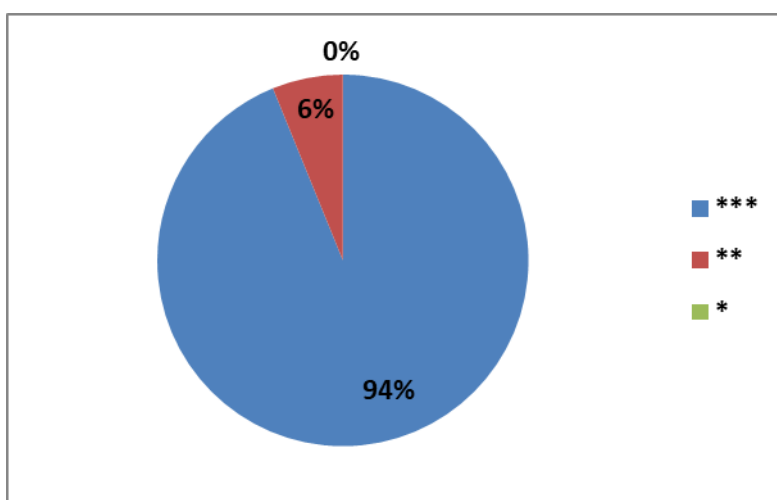


**Figure 29. Répartition des agriculteurs selon le port des EPI**

Ainsi, on constate que 40% des agriculteurs utilisent fréquemment les EPI contre 44% qui les utilisent que parfois. Cependant, 16% déclarent les utiliser que rarement voire jamais.

### ***1.2.7. Respect des règles d'hygiène***

Il est préconisé de prendre une douche et de mettre des habilles propres après chaque période d'exposition à des pesticides. Après manipulation, il est primordial de se laver les mains et le visage avant de manger, boire, fumer ou aller aux toilettes.

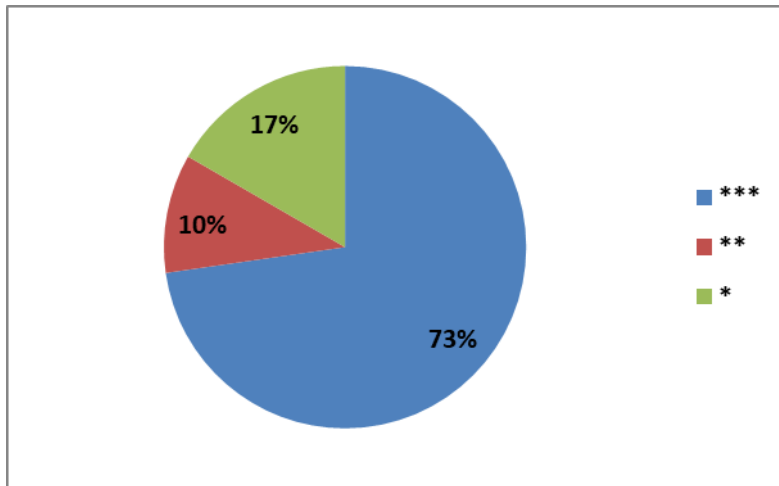


**Figure 30. Répartition des agriculteurs selon le respect des règles d'hygiène**

Il semble que la majorité des agriculteurs interrogés soit 94% respectent les règles d'hygiène après chaque fin de travail. Les 6% restant déclarent se laver que parfois ce qui présente un danger non négligeable.

### ***1.2.8. Respect de délai de rentrée à la parcelle***

Le délai de réentrée dans les sites traités doit être respecté, il est parfois inscrit sur l'étiquette du produit. Généralement, il est compris entre 12 et 48 h selon la toxicité du produit utilisé. Sans mention sur l'étiquette, il est de 6 h au minimum.

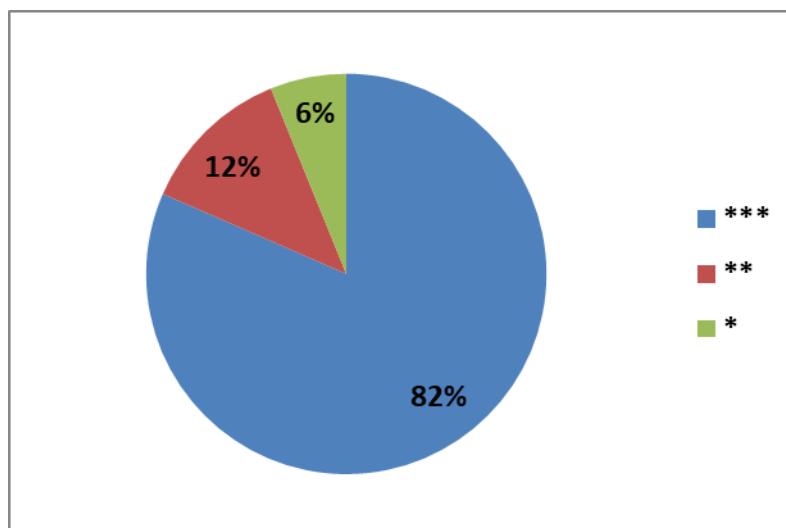


**Figure 31. Répartition des agriculteurs selon le respect des délais de rentrée à la parcelle**

73% des agriculteurs interrogés déclarent respecter fréquemment le délai de réintroduction dans les parcelles traitées. 10% prétendent le respecter que parfois et 17% déclarent respecter ce délai que rarement voire jamais.

### ***1.2.9. Respect des règles de contamination et stockage***

Ces règles sont essentielles pour assurer la sécurité de l'agriculteur mais aussi de son entourage. Les résultats sont illustrés dans la figure ci-dessous.

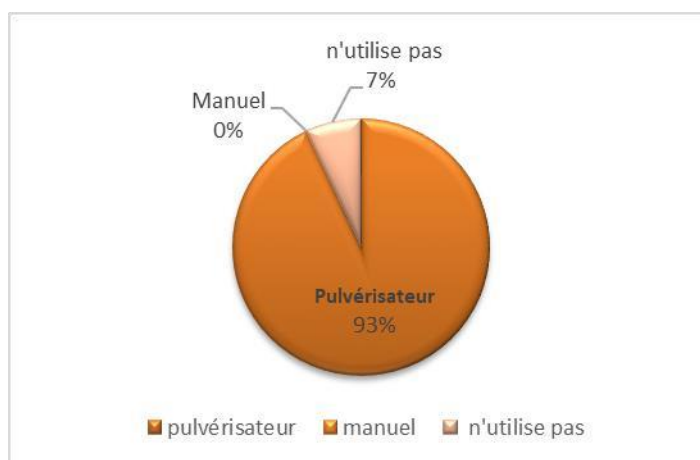


**Figure 32. Répartition des agriculteurs selon le respect des règles de contamination et de stockage**

La majorité des agriculteurs des 7 dairas soit 82% déclarent respecter fréquemment les règles de contamination et de stockage. 12% ne les respectent que parfois et 6% que rarement.

#### ***1.2.10. Moyens utilisés pour application des pesticides***

Cette question avait pour but de déterminer les moyens utilisés lors de l'application des pesticides ainsi que de déterminer les voies d'exposition des agriculteurs. Les résultats sont représentés dans la figure 33.



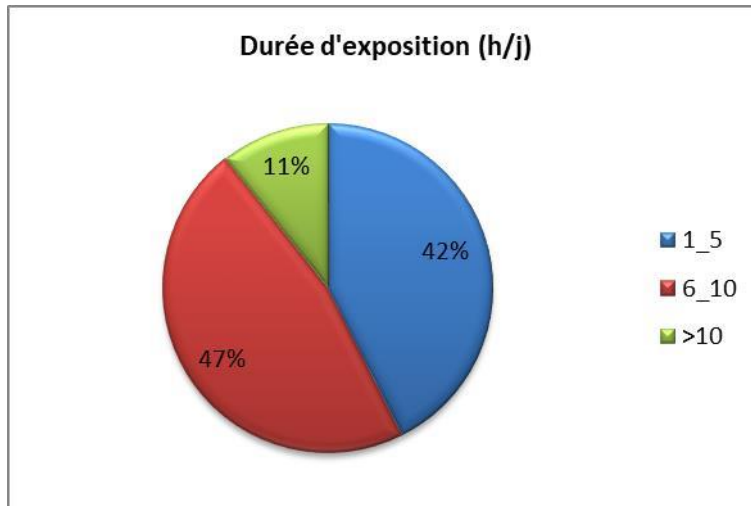
**Figure 33. Répartition des agriculteurs selon les moyens d'utilisation lors d'application des pesticides**

La majorité des agriculteurs soit 93% appliquent les phytosanitaires par pulvérisation. 7% des ouvriers n'utilisent aucun moyen spécifique pour l'application des pesticides.

#### ***1.2.11. Répartition des agriculteurs selon la durée d'exposition***

Cette question peut nous renseigner sur l'intensité de la toxicité des produits phytosanitaires. Les données relatives à cette question sont illustrées dans la figure 34.

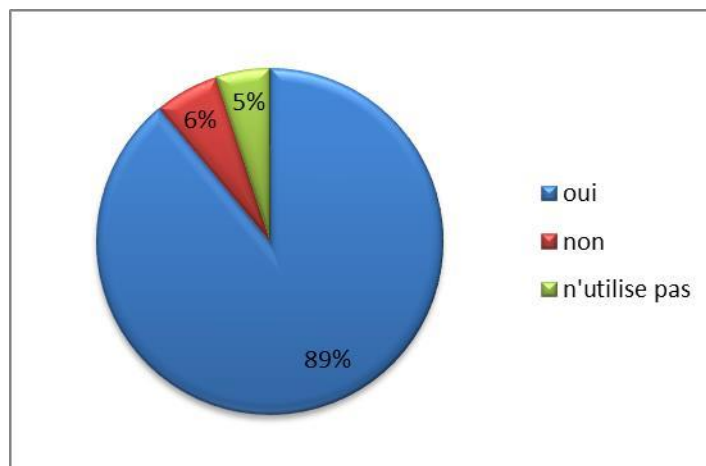
On constate 47% des agriculteurs sont exposés durant 6 à 10 heures par jour aux pesticides. 42% déclarent être exposés pendant 1 à 5 heures de temps par jour. Cependant, 11% des agriculteurs prétendent être exposés plus de 10 heures par jour.



**Figure 34. Répartition des agriculteurs selon la durée d'exposition**

**1.2.12. Répartition des agriculteurs selon le Respect de la dose**

La figure 35 illustre les résultats relatifs au respect de la dose recommandée des produits phytosanitaires utilisés dans les parcelles.

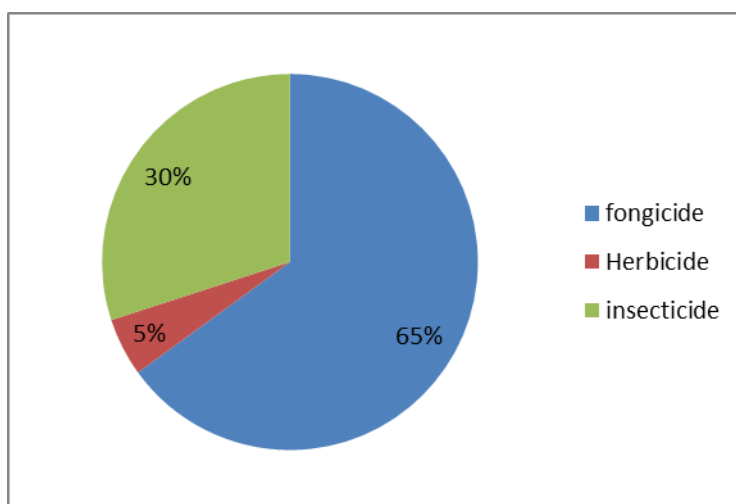


**Figure 35. Répartition des agriculteurs selon le respect de la dose**

89% des agriculteurs respectent les doses recommandées contre 6% qui déclarent ne pas prendre en compte les doses à appliquer en plein champs. 5% des agriculteurs utilisent des doses inférieures à la dose recommandée selon leur déclaration.

### ***1.2.13. Quantité de pesticides utilisés dans la région d'El-Tarf***

Les données relatives aux quantités de pesticides utilisées dans les parcelles des 7 dairas d'El-Tarf sont illustrées dans la figure 36.



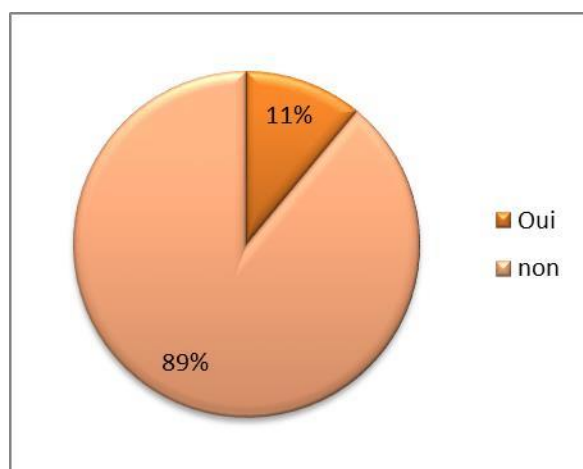
**Figure 36. Quantité de pesticides utilisés (%)**

On constate que 65% des pesticides utilisés dans les 7 dairas de la wilaya d'El-tarf sont des fongicides. Les insecticides représentent 30% de la totalité des produits utilisés et seulement 5% sont des herbicides. Nous signalons que la Daira de Besbes est celle qui utilise le plus de fongicides et d'insecticides.

### ***1.12.14. Réduction de la quantité de pesticides utilisés dans les exploitations***

Les agriculteurs ont été questionnée sur la réduction de l'utilisation des pesticides et ce afin de déterminer le degré de conscience des agriculteurs par rapport aux impacts négatifs de ces produits sur la santé humaine ainsi que sur l'environnement. Les résultats sont illustrés dans la figure 37. La majorité des agriculteurs interrogés soit 89% déclarent ne pas avoir réduit l'utilisation de pesticides et jugent que l'application des grandes quantités est nécessaire pour avoir un meilleur rendement et pensent que les effets sont négligeables. Cependant, 11% prétendent tout de même réduire l'utilisation des produits phytosanitaires dont certains (2 agriculteurs)

qui ont déclaré utiliser d'autres méthodes alternatives pour contrer l'attaque des ravageurs des cultures.



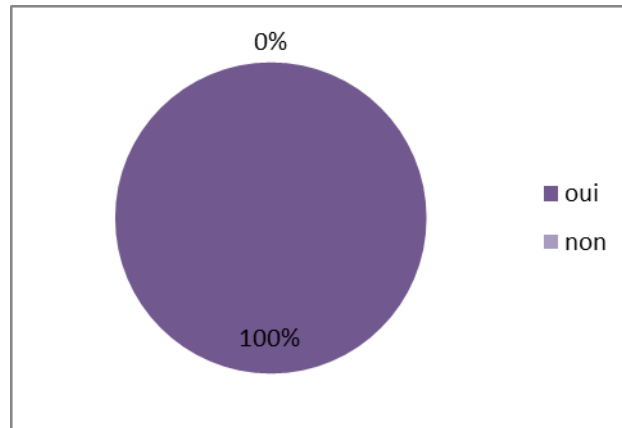
**Figure 37. Répartition des agriculteurs selon la réduction de l'utilisation des pesticides**

### ***1.3. Données relatives à la toxicité des produits phytosanitaires***

Quelques questions ont été posées aux agriculteurs des 7 dairas d'El-Tarf afin de relever des problèmes de toxicité liés directement à l'utilisation des pesticides.

#### ***1.3.1. Connaissance des risques***

Cette question a été posée pour voir si les agriculteurs étaient conscients des dangers occasionnés par les pesticides et des effets indésirables qu'ils peuvent engendrer. Les données sont représentées dans la figure ci-dessous.

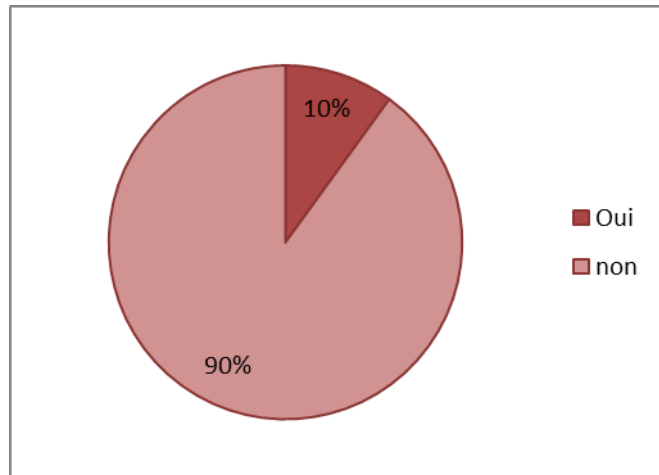


**Figure 38. Répartition des agriculteurs selon leurs connaissances des risques**

L'ensemble des personnes interrogées déclarent avoir connaissance des risques liés à l'utilisation des pesticides mais ont pu difficilement les citer et ont souvent donné des réponses peu précises comme des maux de tête, irritations des yeux, troubles pulmonaires et digestifs, mais aussi des pathologies chroniques comme des problèmes neurologiques, allergies, cancers, maladie de Parkinson, problèmes dermatologiques et troubles hématologiques. Le cancer est la pathologie la plus citée.

### ***1.3.2. Victime d'effets indésirables suite à l'utilisation des pesticides***

Les données relatives à cette question sont illustrées dans la figure 39. 90% des agriculteurs déclarent n'avoir jamais été victime d'effets indésirables ou ne les associent pas aux pesticides.



**Figure 39. Effets indésirables rencontrés chez les agriculteurs**

Cependant, 10% prétendent avoir déjà été victime d'effets indésirables. Parmi les effets rencontrés on trouve :

- ✓ 4 personnes victime de maladies cutanées à Besbes ,  
Dréan et Bouhadjar
- ✓ 1 personne victime de problème ORL à Dréan
- ✓ 2 victimes de problèmes respiratoires à Bouteldja et  
El-Tarf

Il est souvent difficile d'établir un lien de causalité entre les troubles rapportés et les pesticides car ces professionnels sont exposés à des mélanges ; de plus toutes les victimes n'ont pas le réflexe de signaler leurs symptômes, ce qui entraîne certainement une sous-estimation de l'incidence de ces effets adverses.

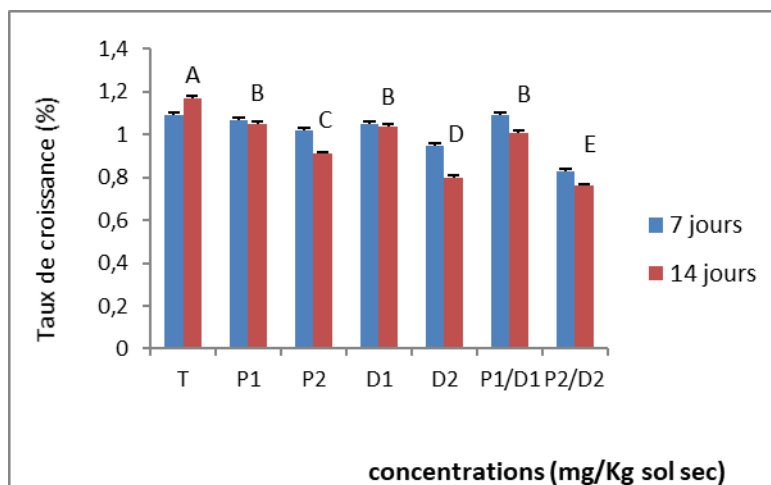
## II. Evaluation de la toxicité de deux pesticides (in vitro) chez deux modèles biologiques

### **II.1. Invertébrés du sol, cas du ver de terre : *Aporrectodea caliginosa***

#### **1.1. Effet des différents traitements sur le taux de mortalité et le taux de croissance de *Aporrectodea caliginosa***

Concernant la mortalité des vers de terre exposés durant 7 et 14 jours aux différents traitements chimiques, nous n'avons observé aucune mortalité chez cette espèce et ce comparés aux vers de terre témoins. Les résultats obtenus des taux de croissance des vers de terre exposés aux différentes concentrations de Prosaro, Decis et traitement combiné (Prosaro/Decis) pendant 7 et 14 jours sont représentés dans la figure n°40.

On remarque une diminution significative ( $p \leq 0.05$ ) du taux de croissance des vers de terre en fonction du temps et des concentrations comparativement aux vers témoins où ce taux est de 1.09 % et ce pour les différents traitements.



**Figure 40. Effet des différents traitements sur le taux de croissance d'*Aporrectodea caliginosa***

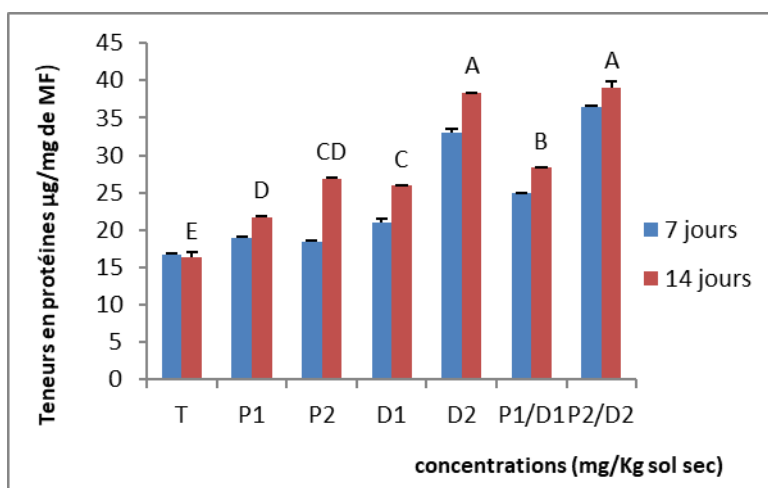
Les écarts types sont obtenus à partir des moyennes correspondant à trois répétitions  $\pm$  ET et les lettres indiquent des différences significatives entre les groupes de chaque espèce par rapport au témoin, en utilisant une ANOVA bidirectionnelle et un test de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

Cependant, la diminution de la croissance des vers de terre est plus marquée à la fin de la période d'exposition pour la plus forte concentration du traitement combiné P2/D2 (0.76%) et ce par rapport aux valeurs témoins, soit une diminution de 30%.

Par ailleurs, les valeurs obtenues aux faibles concentrations du traitement combiné (P1/D1) sont presque similaires à celles des témoins après 7 et 14 jours d'exposition.

### 1.2.Effets des différents traitements sur la variation des teneurs en protéines totales

La Figure 41 représente l'effet des différents traitements (Prosaro, Decis, Prosaro/Decis) sur les variations des teneurs en protéines totales chez les vers de terre exposés durant 7 et 14 jours. Les résultats montrent une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) des teneurs en protéines en fonction du temps et des concentrations utilisées et ce par rapport aux valeurs témoins.



**Figure 41. Effet des différents traitements sur la variation des teneurs en protéines totales (MF : Matières Fraîches)**

A 7 jours, les valeurs les plus marquées sont signalées pour la D2 avec une valeur qui atteint 33 µg/mg MF et là P2/D2 avec un taux de 36.5 µg/mg MF. De même, après 14 jours où les teneurs les plus élevées sont signalées à D2 (38.33µg/mg MF) soit 2 fois le témoin (16.3µg/mg MF) et P2/D2 (39,08µg/mg MF). Cependant, on constate que les taux enregistrés pour la deltaméthrine seule (D2) et le traitement combiné (P2/D2) sont pratiquement les mêmes et ce pour les deux périodes d'exposition (7 et 14 jours).

### 1.3.Effet des différents traitements sur la variation des taux de glutathion (GSH)

Les effets des différents traitements appliqués pendant 7 et 14 jours sur la variation des teneurs en GSH chez les vers de terre sont illustrés dans la Figure 42. Une diminution significative ( $p \leq 0.05$ ) de ce taux a été enregistrée en fonction du temps d'exposition aux différentes concentrations des deux pesticides ainsi que du traitement combiné comparativement aux témoins. La valeur minimale de ce taux a été enregistrée après 14 jours d'exposition à la plus forte concentration du traitement combiné P2/D2 qui est de l'ordre de  $11.9 \mu\text{M}/\text{mg Prot}$  soit une réduction de près de trois fois le témoin ( $34.8 \mu\text{M}/\text{mg de protéine}$ ) ainsi que chez les vers traités par la D2 avec une valeur de  $13.3 \mu\text{M}/\text{mg Prot}$ .

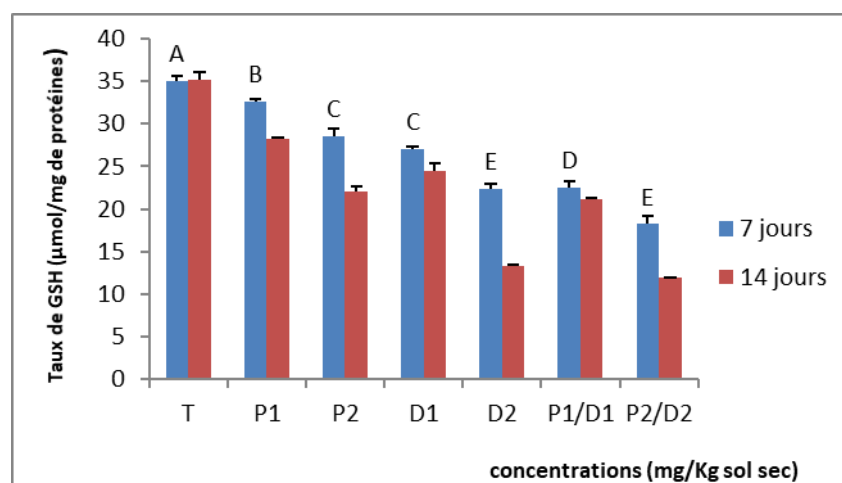
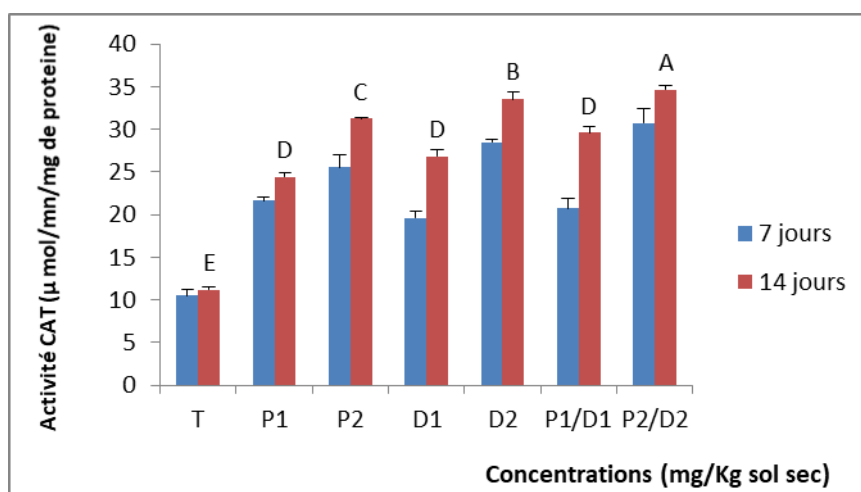


Figure 42. Effet des différents traitements sur la variation des taux de GSH

### 1.4.Effet des différents traitements sur la variation de l'activité catalase (CAT)

La Figure 43 représente les résultats obtenus quant 'aux effets des différents traitements sur la variation de l'activité CAT chez les vers de terre exposés durant 7 et 14 jours. Les résultats montrent une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité CAT en fonction du temps d'exposition et des concentrations croissantes comparativement aux vers de terre témoins dont les valeurs enregistrées sont de  $10.49 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg Prot}$  après 7 jours d'exposition et de  $11.2 \mu\text{M}/\text{mg Prot}$  à la fin du traitement.

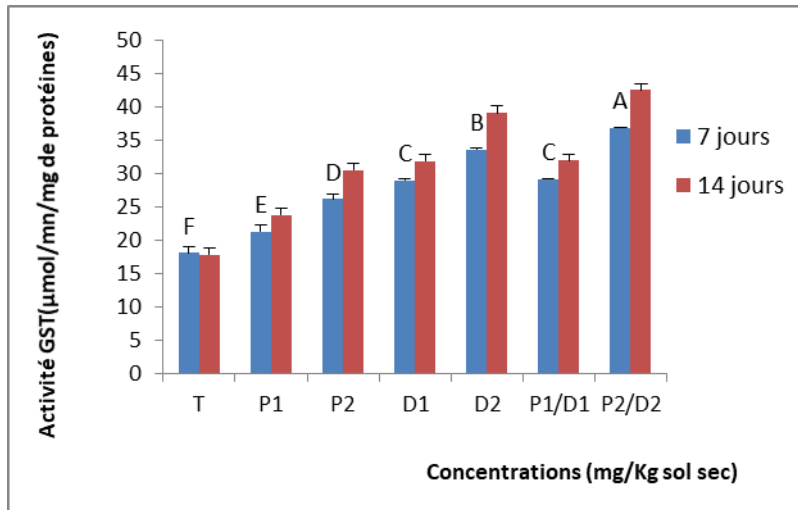


**Figure 43. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité CAT**

Cependant, cette activité est plus importante après 14 jours qu'à 7 jours d'exposition avec un maximum de 34.68  $\mu\text{M}/\text{mg Prot}$  pour la plus forte concentration du traitement combiné (P2/D2) soit le triple des valeurs témoins. De même pour les activités signalées aux plus fortes concentrations de Decis D2 (33.53 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg Prot}$ ) et de Prosaro P2 (31.23  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg Prot}$ ).

### **1.5.Effet des différents traitements sur la variation de l'activité glutathion S-transférase (GST)**

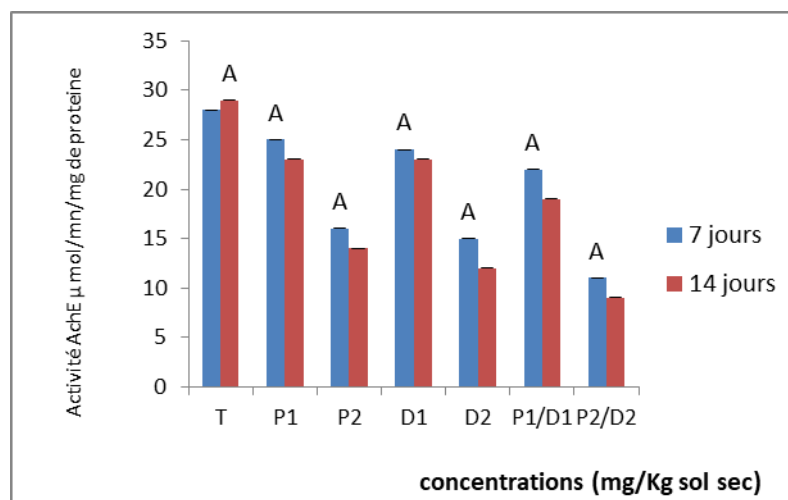
Les résultats obtenus concernant les effets des différents traitements sur la variation de l'activité GST des vers de terre exposés durant 7 et 14 jours sont regroupés dans la Figure 44. Nous pouvons observer une induction hautement significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité GST en fonction du temps et des concentrations des différents traitements comparativement aux vers témoins. En effet l'activité GST est à son maximum après 14 jours de traitement aux plus fortes concentrations D2 soit 39.13  $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg Prot}$  et du traitement combiné P2/D2 avec une valeur de 42.55 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg Prot}$ .



**Figure 44. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité GST**

### **1.6.Effets des différents traitements sur la variation de l'activité Acétyl choline estérase (AChE)**

La Figure 45 illustre les résultats obtenus concernant les variations de l'activité AChE chez les vers de terre exposés durant 7 et 14 jours aux différents traitements. Les résultats montrent que l'activité AChE diminue significativement ( $p \leq 0.05$ ) en fonction du temps et des concentrations croissantes des différents traitements comparativement aux témoins.

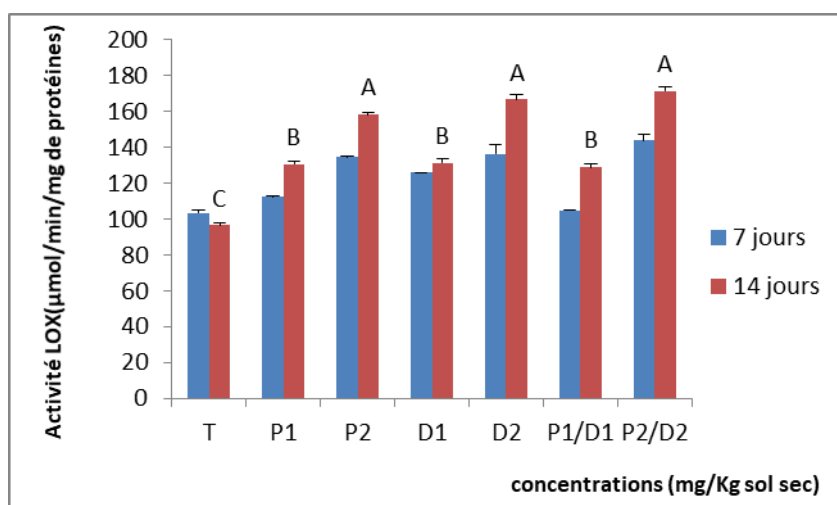


**Figure 45. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité AChE**

Cette diminution est beaucoup plus marquée pour les fortes concentrations des différents traitements (P2, D2, P2/D2) que ce soit après 7 jours qu'à la fin du traitement où le maximum est signalé après 14 jours pour la concentration P2/D2 avec une valeur de 9  $\mu\text{M}/\text{mg}$  Prot soit une diminution de 69% par rapport à la valeur enregistrée chez le témoin qui est de 29  $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  Prot. On constate également que les doses recommandées (P1, D1, P1/D1) affectent moins cette activité enzymatique que les doses double que ce soit après 7 jours qu'après 14 jours.

### 1.7.Effets des différents traitements sur la variation de l'activité lipoxigénase (LOX)

La Figure 46 représente les résultats obtenus concernant les variations de l'activité LOX chez les vers de terre exposés durant 7 et 14 jours aux différents traitements (Prosaro, Decis, Prosaro/Decis). Nous pouvons noter une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité LOX en fonction du temps et des concentrations chez les vers de terre traités comparativement aux vers témoins.



**Figure 46. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité LOX**

Cependant, on constate que cette activité est plus stimulée après 14 jours qu'après 7 jours d'exposition avec des valeurs maximales enregistrées pour les fortes concentrations des différents traitements P2, D2, P2/D2 soit : 158.29 ; 166.71 ; 171.45  $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  Prot respectivement, et ce comparativement aux valeurs témoins qui équivaux 96.57  $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  Prot. Après 7 jours d'exposition et aux doses recommandées (P1, D1), cette activité est

légèrement stimulée comparativement aux valeurs témoins. Alors que la valeur obtenue suite à l'exposition à la combinaison P1/D1, toujours après 7 jours, est inférieure à celle obtenue chez les vers témoins.

## ***II.2. Plante non cible : cas du Blé « *Triticum durum* »***

### **2.1. Effets des différents traitements sur les teneurs en Chlorophylles**

D'après le tableau 10, qui regroupe les différents résultats obtenus concernant les teneurs en chlorophylle chez les feuilles de blé exposées aux différents traitements, on remarque une légère variation du taux de chlorophylle **a** chez les feuilles traitées pendant 7j par les doses recommandées P1, D1 (21.20 ; 19.17) comparativement aux feuilles témoins (21.71), alors que ce même taux diminue de manière significative ( $p \leq 0.05$ ) pour les feuilles traitées par le reste des concentrations (P2, D2, P1/D1 et P2/D2). Cependant, nous observons une diminution de ces teneurs après 14 j d'exposition pour l'ensemble des concentrations utilisées.

**Tableau n°10. Variation des teneurs en chlorophylle chez les feuilles de blé traitées par les différentes concentrations (Prosaro, Decis, Prosaro/Decis)**

Concentration (mg/kg sol sec)	Chl a		Chl b		Chla+b		Chl a/b	
	7 j	14 j	7 j	14 j	7 j	14 j	7 j	14 j
<b>T</b>	21.71 ±0.012	22.01 ±0.315	19.80 ±0.037	19.75 ±1.028	41.51 ±0.717	41.76 ±0.201	1.09±0.0 11	1.11 ±0.208
<b>P1</b>	21.20 ±0.109	20.13 ±0.221	18.39 ±0.146	16.71 ±0.116	39.59 ±0.632	36.84 ±0.056	1.15 ±0.105	1.20±0.0 17
<b>P2</b>	18.50 ±0.168	15.52 ±0.511	15.43 ±0.098	12.06 ±1.03	33.93 ±0.391	27.58 ±1.031	1.19 ±0.028	1.28 ±0.005
<b>D1</b>	19.17 ±0.092	16.94 ±0.122	15.49 ±0.136	13.45 ±0.255	34.66 ±0.088	30.39 ±0.975	1.23 ±0.033	1.25 ±0.230
<b>D2</b>	15.57 ±0.157	13.33 ±0.116	12.92 ±0.471	10.06 ±0.521	28.49 ±0.111	23.39 ±1.012	1.20 ±0.098	1.32 ±0.102
<b>P1/D1</b>	16.84 ±0.09	13.97 ±0.344	13.58 ±0.160	11.04 ±0.219	30.42 ±0.320	25.01 ±0.058	1.23 ±0.066	1.26 ±0.154
<b>P2/D2</b>	13.13 ±0.118	10.74 ±0.608	10.38 ±0.032	8.07 ±0.014	23.51 ±0.084	18.81 ±0.167	1.26±0.1 03	1.33 ±0.083

Pour les teneurs en chlorophylles **b**, une diminution significative ( $p \leq 0.05$ ) est enregistrée après 7j d'exposition en fonction du temps et des différents traitements comparés aux feuilles

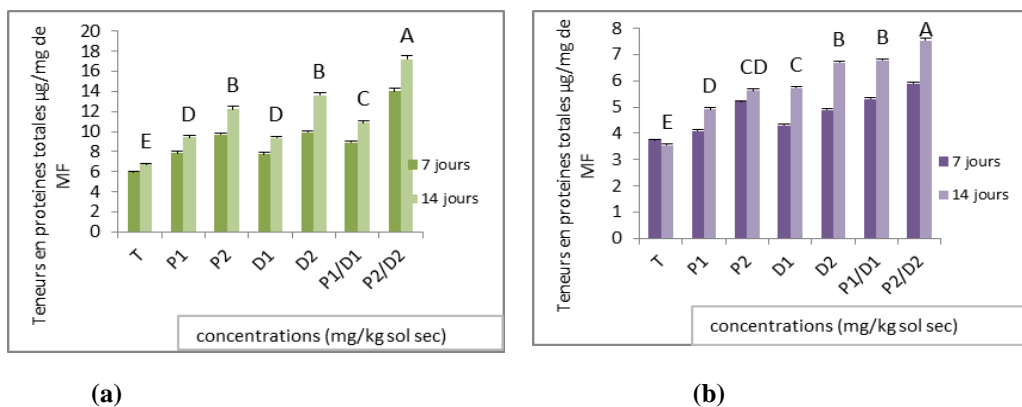
témoins pour l'ensemble des traitements sauf pour la concentration P1 (18.39) où cette diminution est très faible comparé aux témoins (19.80). En revanche, ces teneurs diminuent significativement après 14 j jours d'exposition pour les différents traitements (seuls et combinés).

Quant 'aux valeurs des **chl a+b** enregistrées après 7j d'exposition, elles suivent le même sens que pour la **chl a** et **chl b** avec une réduction de presque de moitié pour le traitement combiné (P2/D2) avec une valeur de 23.51 comparé aux témoins (41.51). Après 14 j d'exposition, on note une diminution significative des **Chl a+b** chez les feuilles traitées aux différentes concentrations où les plus faibles teneurs sont enregistrées pour les plus fortes doses du traitement combiné P2/D2 (18.81)

Quant au rapport **a/b**, on constate une augmentation hautement significative en fonction du temps et des concentrations des différents traitements, il est de 1.09 chez les témoins et atteint la valeur de 1,26 chez les feuilles traitées après 7 j aux concentrations P2/D2. Après 14 jours d'exposition, ce rapport est au maximum à P2/D2 (1.33), D2 (1.32) et P2 (1.28).

## 2.2.Effet des différents traitements sur le taux des protéines totales

D'après la figure 47, on observe une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) des teneurs en protéines chez les feuilles de blé (a) en fonction du temps et des concentrations utilisées et ce par rapport aux témoins. A 7 jours, les valeurs les plus marquées sont signalées pour D2 (9.92  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF) et pour P2/D2 (13.99  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF) comparativement aux valeurs témoins (5.96  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF).

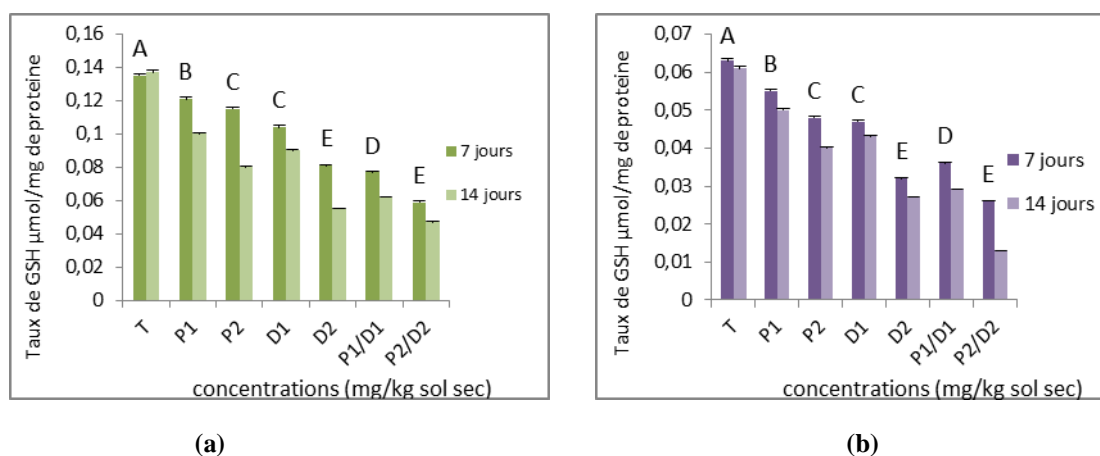


**Figure 47. Effet des différents traitements sur la variation des teneurs en protéines totales chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé**

De même, après 14 jours où les teneurs de protéines les plus élevées sont signalées à D2 (13.63  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF) soit 2 fois le témoin (6.72 $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF) et P2/D2 (17.23 $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF) qui est presque 3 fois le témoin (6.72  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF). Les mêmes observations ont été retenues pour la quantité de protéine chez les racines de blé qui augmente significativement ( $p\leq 0.05$ ) en fonction du temps et des concentrations utilisées des deux pesticides et qui atteint son maximum après 14 jours avec une valeur de 7.54  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF à P2/D2 qui est presque le double de la valeur enregistrée chez le témoin (3.55  $\mu\text{g}/\text{mg}$  MF). Chez les racines de blé traitées par les doses recommandées (P1 et D1) après 7 j d'expositions, les valeurs obtenues sont presque similaires à celles des témoins et augmentent dans le temps (après 14j).

### 2.3. Effets des différents traitements sur le taux de glutathion (GSH)

D'après la figure 48, une diminution significative ( $p\leq 0.05$ ) du taux de GSH a été enregistrée en fonction du temps d'exposition des feuilles et des racines de blé aux différentes concentrations des deux pesticides ainsi que du traitement combiné et ce par rapport aux témoins.



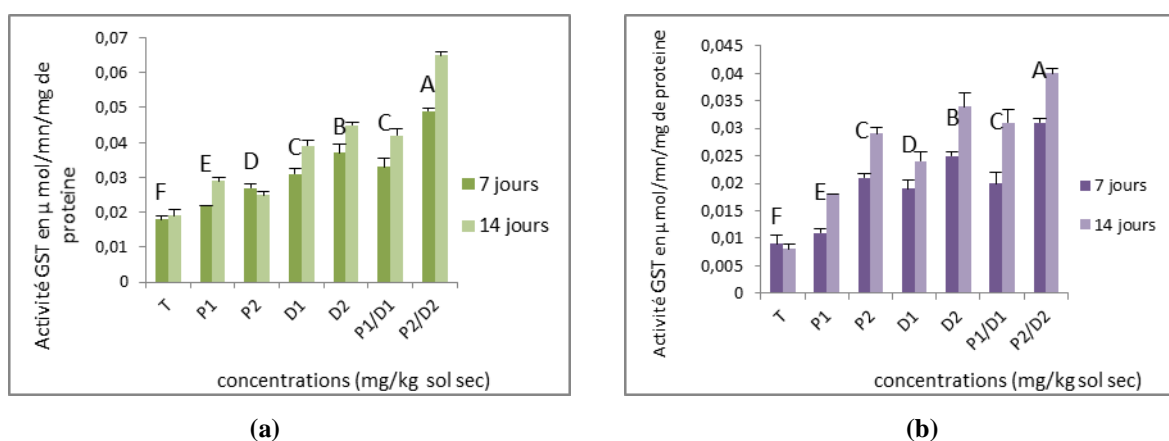
**Figure 48. Effet des différents traitements sur la variation du taux de GSH chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé**

Après 7j d'exposition, la plus forte réduction (56%) du taux de GSH a été enregistrée chez les feuilles traitées par le traitement combiné P2/D2 (0.059  $\mu\text{M}/\text{mg}$  Prot) comparativement à la valeur témoin (0.135  $\mu\text{M}/\text{mg}$  Prot). De même pour les teneurs de GSH enregistrées après 14 j où 66% de réduction a été noté pour P2/D2(0.047 $\mu\text{M}/\text{mg}$  Prot) par rapport aux feuilles témoins (0.137  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de Prot).

Il est à signaler qu'après 14 j d'exposition une forte réduction est également relevée chez les feuilles de blé traitées par D2 (0.049  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de Prot) qui est presque équivalente aux valeurs retrouvées pour P2/D2. Chez les racines, la plus faible teneur (0.016  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de Prot) est signalée pour P2/D2 après 14j d'exposition comparativement aux racines témoins (0.063  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de prot) soit une réduction de 75%.

#### 2.4. Effets des différents traitements sur l'activité GST

La figure 49 représente la variation de l'activité GST observée chez les feuilles et racines de *Triticum durum* exposées aux différentes concentrations des pesticides. D'après la figure ci-dessous, nous remarquons une induction significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité GST en fonction du temps et des concentrations des différents traitements comparativement aux feuilles et racines témoins.

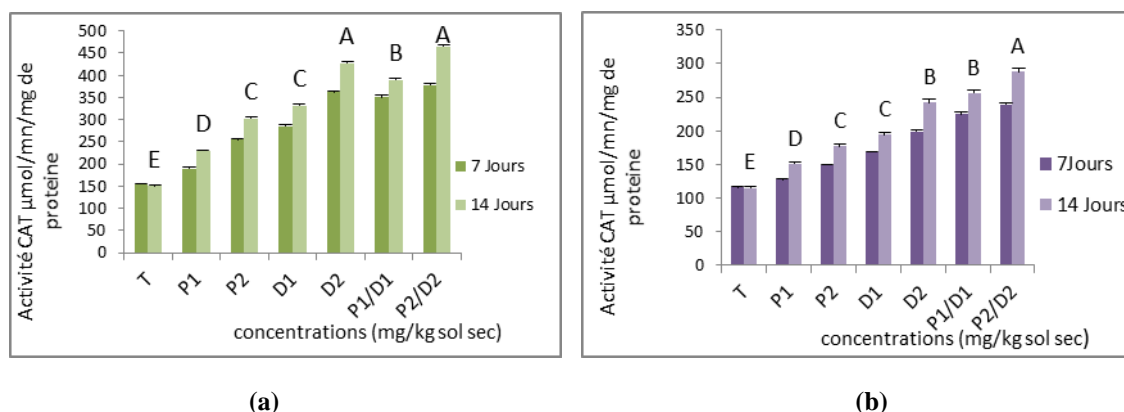


**Figure 49. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité GST chez les feuilles (a) et racines (b) de blé**

Après 7 j d'exposition, on constate que l'activité GST n'est pas vraiment stimulée chez les feuilles et racines traitées à la dose recommandée du Prosaro (P1) comparativement aux témoins. En revanche, cette activité atteint son maximum chez les feuilles exposées durant 14j aux concentrations D2 et P2/D2 (0.045 et 0.065  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  Prot) comparés aux feuilles témoins (0.019  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  Prot). Les mêmes observations sont enregistrées chez les racines de blé mais à noter que les valeurs enregistrées chez les feuilles sont supérieures à celles enregistrées chez les racines.

## 2.5. Effets des différents traitements sur l'activité catalase (CAT)

D'après les résultats mentionnés dans la figure 50, on observe une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité CAT en fonction du temps d'exposition et des concentrations croissantes comparativement aux feuilles et racines témoins.

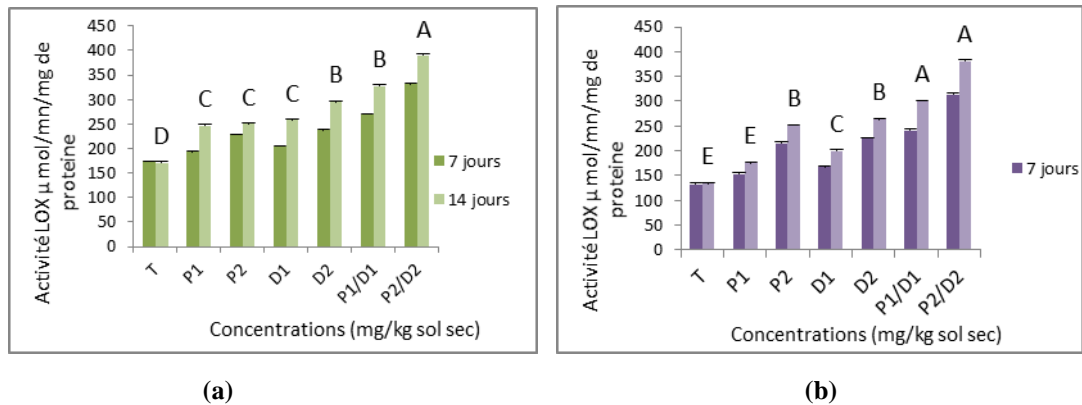


**Figure 50. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité CAT chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé.**

Après 7 et 14 j d'exposition, les valeurs maximales enregistrées chez les feuilles sont signalées pour les concentrations D2, P1/D1 et P2/D2 comparativement aux valeurs témoins (150 et 149.8  $\mu\text{M}/\text{mg Prot}$ ). Chez les racines, la valeur maximale a été enregistré après 14 jours d'exposition à la concentration P2/D2 (288  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg Prot}$ ) comparée aux valeurs témoins (115  $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg Prot}$ ).

## 2.6. Effets des différents traitements sur l'activité lipoxigénase (LOX)

La figure 51 illustre les résultats des variations de l'activité LOX observés chez les feuilles et racines de *Triticum durum* exposées aux différentes concentrations de Prosaro, Decis et Prosaro/Decis. Ainsi, on observe une augmentation significative ( $P \leq 0.05$ ) de l'activité LOX chez les feuilles et les racines de blé en fonction du temps et des concentrations croissantes des différents traitements comparativement aux témoins.



**Figure 51. Effet des différents traitements sur la variation de l'activité LOX chez les feuilles (a) et les racines (b) de blé.**

Cependant, chez les feuilles, cette activité est plus stimulée après 14 jours qu'après 7 jours d'exposition avec des valeurs maximales signalées pour les fortes concentrations des différents traitements P2, D2, P2/D2 (250 ; 295 et 390 µM/min/mg de Prot) comparativement aux valeurs témoins qui équivaux 171 µM/min/mg de Prot.

De même, une augmentation significative ( $p \leq 0.05$ ) de l'activité LOX est observée en fonction du temps et des concentrations des différents traitements chez les racines où les valeurs maximales sont enregistrées après 14 j à P2/D2 (381 µM/min/mg Prot) qui représentent presque trois fois la valeur témoin (134 µM/min/mg de Prot).

***CHAPITRE IV.***  
***DISCUSSION GENERALE***

## **I. Evaluation du risque lié à l'utilisation des pesticides**

L'objectif initial de l'enquête réalisée auprès des agriculteurs des 7 dairas de la wilaya d'El-Tarf était de recueillir des informations sur l'utilisation des produits phytosanitaires dans cette région agricole et qui pourront nous aider à mettre en exergue un lien de causalité entre ces produits et l'état de santé des agriculteurs d'une part et l'impact sur l'environnement d'autre part. Cependant, nous avons rencontré beaucoup de contraintes lors du déroulement de cette étude notamment la réticence des ouvriers à répondre à certaines questions et carrément l'abstinance de certains à participer au questionnaire. Finalement, l'enquête n'a pu être réalisé que sur 70 agriculteurs soit 10 agriculteurs par Daira.

A l'issu de cette enquête, nous avons pu faire ressortir les pesticides les plus utilisés dans la région que nous avons par la suite utilisée dans la deuxième partie (*in vitro*). Il s'est avéré que la majorité des pesticides employés dans les parcelles sont des fongicides et des insecticides. La région d'El-Tarf est connue pour son climat de type méditerranéen humide caractérisé par deux saisons de 6 mois chacune (**Kherifi et kherici, 2017**) avec une pluviométrie assez importante, favorisant ainsi la propagation de maladies fongiques ainsi que l'apparition d'insectes ravageurs d'où l'utilisation de quantités importantes de fongicides et insecticides afin de les neutraliser. Nous avons également constaté que le fongicide le plus utilisé est le Prosaro. Ce dernier appartient à la famille des triazoles, il est composé de deux ingrédients actifs à savoir le Tébuconazole et le Prothioconazole. Pour les insecticides, il s'avère que le Décis EC 25 (deltaméthrine) est celui qui est le plus utilisé contre les pucerons et les criquets. Selon les agriculteurs, ces deux pesticides sont largement employés dans la région car ils sont très abondants dans le marché des produits phytosanitaires et sont très recommandés par les vendeurs et ce en raison de leurs efficacités.

L'étude sociodémographique a révélé que près de 70% des agriculteurs interrogés sont âgés de plus de 36 ans et que les moins de 25 ans sont absents de ce secteur. En général, les plus jeunes ne s'intéressent pas beaucoup à l'agriculture et préfèrent s'orienter vers d'autres secteurs plus lucratifs. La majorité (95%) exercent depuis plus de 5 ans dont 46% plus de 25 ans. La durée d'exposition est 47% entre 6-10h/ jour et 42% entre 1-5h/jour. Connaitre le nombre d'années exercée et la durée d'exposition journalière peuvent nous aider à avoir une idée sur l'intensité de l'exposition des agriculteurs aux pesticides d'une part et d'autre part de savoir si ces derniers sont conscients des risques encourus suite à une mauvaise utilisation ou

gestion de ces produits. De même pour le niveau d'instruction des ouvriers où la majorité soit 70% se sont révélés non diplômés.

D'après **Marc** (2018), le taux élevé d'analphabétisme chez les agriculteurs ainsi que le manque de conscience pourraient être à l'origine du manque d'attention lors de la manipulation des produits agro-chimiques menaçant ainsi la durabilité de l'agriculture. En France, **Morilon** (2016) a démontré que plus le niveau d'étude de l'agriculteur est élevé, plus son niveau de connaissances à propos des pesticides est important. Ainsi, les études permettent aux ouvriers d'avoir conscience de la dangerosité de ces produits ce qui les pousse à faire attention aux pratiques et à prendre toutes les précautions nécessaires lors de leurs usages. Dans notre cas, 30% seulement sont diplômés et le reste ne le sont pas mais malgré cela, nous avons tout de même constaté que la majorité soit 67% lisent les étiquettes sur les produits pour avoir une idée sur le danger auquel ils sont exposés et 82% respectent les règles de contamination et de stockage des produits. Ceci est rassurant et met en évidence le degré de conscience de ces personnes. Parallèlement, 40% des personnes interrogées prétendent utiliser fréquemment les EPI et 44% déclarent les utiliser que parfois. Certains manipulent à mains nues et d'après plusieurs études réalisées ailleurs, beaucoup d'agriculteurs ne portent pas d'EPI soit par négligence et parfois par refus assumé (**Morilon, 2016**). Les EPI sont par définition « des moyens ou des dispositifs destinés à être portés ou tenus par une personne en vue de la protéger contre un ou plusieurs risques susceptibles de menacer sa santé ou sa sécurité » (INERIS). Leur emploi est obligatoire s'il est mentionné sur l'étiquette du produit d'autant plus que les expositions peuvent être multiples (orales, respiratoires, cutanées, oculaires), avec des risques d'ingestion, d'inhalation, de contact et de projection. Les risques de contamination se font directement lors de la préparation des bouillies, lors de l'application des produits, la vidange des pulvérisateurs ou sa vidange et aussi lors de dysfonctionnement dans les équipements ce qui nécessite le port de gants et de masques. Une contamination indirecte peut avoir lieu lors de contact avec un élément pollué ou bien lors de réentrée dans les parcelles traitées par les pesticides.

Nous avons enchaîné par la question suivante et nous avons trouvé que 94% respectent les règles d'hygiène fréquemment après chaque fin de travail en se lavant les mains et le visage après avoir manipulé des pesticides et avant de manger, boire, fumer ou aller aux toilettes. En revanche, nous avons remarqué qu'ils étaient hésitants lors des réponses ce qui a

suscité notre curiosité un peu plus en insistant sur ces questions mais la plupart répondaient par oui mais tout en banalisant parfois ces actes d'hygiène.

Aussi, les agriculteurs déclarent choisir eux même les pesticides dans la majorité des cas soit 57% et 22% sur avis du vendeur, ceci peut entraîner des dépassements et des risques de contamination par des produits qui ne sont peut-être pas adéquats. De plus, les vendeurs peuvent parfois se tromper sur l'utilité des produits et certains sont peu scrupuleux et mettent en vente des produits de contrefaçon ou carrément interdits par la loi ce qui va accentuer le danger de ces produits sur l'homme et l'environnement. Par contre, on a été surpris de constater que la majorité soit 89% respectaient les doses recommandées par les firmes des produits et qu'ils respectaient également les délais de réintroduction dans les parcelles traitées (73% fréquemment contre 17% jamais). Cependant, il existe toujours une minorité non négligeable qui ne respecte ni les doses ni le délai de réentrée dans les champs, ce qui peut entraîner des effets directs sur leur état de santé et aussi des perturbations de l'écosystème. Nous signalons également, l'emploi répété des pesticides à base de la même matière active ce qui pourrait favoriser le développement de résistance chez les organismes nuisibles (**SAGÉ Pesticides, 2011**) notamment des pucerons poussant ainsi les agriculteurs à augmenter parfois les quantités de produits phyto-chimiques ce explique l'aveu de certains agriculteurs (6%) de ne pas respecter les doses.

La totalité des agriculteurs questionnés soit 100% ont déclaré avoir connaissance de tous les risques liés à l'utilisation des pesticides et ont même cité quelques exemples de symptômes même s'ils étaient un peu confus et peu précis à savoir des signes d'intoxication aiguë (maux de tête, irritations des yeux, troubles pulmonaires et digestifs), mais aussi des pathologies chroniques (problèmes neurologiques, allergies, maladie de Parkinson, problèmes dermatologiques et troubles hématologiques et cancer qui était la pathologie la plus citée. 90% d'entre eux déclarent n'avoir jamais été victime d'effets secondaires et 87% prennent toutes les mesures nécessaires avant toute manipulation. Cependant, 10% prétendent avoir déjà été victime d'effets indésirables. Parmi les effets rencontrés on trouve des maladies cutanées, des problèmes ORL et respiratoires. Il est souvent difficile d'établir un lien de causalité entre les troubles rapportés et les pesticides car ces professionnels sont exposés à des mélanges ; de plus toutes les victimes n'ont pas le réflexe de signaler leurs symptômes, ce qui entraîne certainement une sous-estimation de l'incidence de ces effets adverses. Aussi, il faut savoir que la majorité soit 74% étaient fumeurs rendant donc difficile la mise en cause des pesticides. En revanche, la cigarette et l'exposition à ces produits peut accroître la probabilité

d'avoir différents types de pathologie notamment respiratoire sachant que 93% des agriculteurs utilisent les pesticides par pulvérisation. De plus 16% ont déclaré avoir des pathologies chroniques dont 5 personnes souffrent de maladies endocriniennes ce qui pourrait être lié directement à l'exposition aux pesticides sachant que ces derniers sont connus pour être des perturbateurs endocriniens.

En fin,89% déclarent ne pas avoir réduit l'utilisation de pesticides et ne pensent pas la réduire un jour et jugent que l'application de grandes quantités est nécessaire pour avoir un meilleur rendement et pensent que les effets sont négligeables. Cependant, 11% prétendent tout de même réduire l'utilisation des produits phytosanitaires dont certains (2 agriculteurs) qui ont déclaré utiliser d'autres méthodes alternatives pour contrer l'attaque des ravageurs des cultures.

Au terme de cette enquête, nous avons constaté que dans l'ensemble, les agriculteurs sont conscients du réel danger que peut présenter l'utilisation massive des pesticides et le non-respect des règles d'hygiène, des doses, des délais etc.. Cependant, les réponses ont été parfois vagues et une hésitation de leur part a été ressentie, ce qui nous pousse à croire que la réalité est tout autre. Le problème majeur est la banalisation de la situation de la part de ces employés et parfois le manque d'information, de formation, de sensibilisation, de coordination avec les autorités concernées ce qui pourra entraîner une dégradation de la situation et contribuera au déclin de la santé des agriculteurs mais aussi à l'accumulation des pesticides dans l'environnement constituant ainsi une menace pour la biodiversité.

## **II. Evaluation de la toxicité de deux pesticides (in vitro) chez deux modèles biologiques**

### **1. Invertébrés du sol, cas du ver de terre : *Aporrectodea caliginosa***

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur l'évaluation des effets de deux pesticides largement utilisés dans la région agricole d'El-Tarf, il s'agit donc du Prosaro, du Decis (deltaméthrine) et du traitement combiné (Prosaro/Decis) chez les vers de terre *Aporrectodea caliginosa* en étudiant les variations de plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques.

La mortalité et la croissance des vers de terre sont les premiers paramètres qui ont été abordés. Nos résultats n'ont signalé aucune mortalité chez les vers de terre traités par les deux pesticides (même aux plus fortes concentrations) utilisés et ce durant toute la période d'exposition (7 et 14 jours), contrairement aux taux de croissance où nous avons observé une réduction générale de ce paramètre qui est plus marqué aux plus fortes concentrations (P2, D2, P2/D2). Ce résultat est en accord avec ceux de **Zhou et al. (2006)** qui ont montré que la mortalité est un paramètre moins révélateur d'une toxicité chez les vers de terre que le poids qui est beaucoup plus sensible et ce après une exposition à l'Acétochlore et au Méthamidophos. De leurs côtés **Zeriri et al. (2013)** ont démontré que le Méthomyline provoquait pas de mortalité chez *Octodrilus complanatus* mais réduisait le poids d'où un taux de croissance inférieur à celui des témoins et ce aux plus fortes concentrations. Aussi, **Correia & Moreira, (2010)** ont rapporté, dans de nombreux tests, que le glyphosate n'avait aucun effet sur la survie d'*Eisenia fetida* mais qu'il provoquait une perte de poids de près de 50%. Ce même herbicide, et d'après **Kpan et al., (2018)**, s'est révélé, encore une fois, non toxique pour les vers de terre du genre *Eudrilus Eugeniae*. De leur côté, **Blattner et al. (2012)** ont indiqué que la deltaméthrine n'était pas toxique pour *Eisenia fetida* et ne provoquait pas de mortalité.

Toutes ces études viennent appuyer nos observations. Il s'avère que le Decis (deltaméthrine) n'est pas létale pour *Aporrectodea caliginosa* à la dose agricole recommandée, en revanche ces mêmes doses induisent une réduction de la croissance chez cette même espèce.

D'un autre côté, plusieurs études rapportent la toxicité du prothioconazole et du tebuconazole seuls ou associés contrairement à nos résultats. **Gutman (2019)** a rapporté une mortalité importante des pucerons du soya *Aphis glycines* après exposition à un fongicide (Stratego Pro) composé de prothioconazole et trifloxystrobine. De même pour **Shentu et al. (2016)**, qui ont démontré l'effet du traitement composé de trifloxystrobine et de tebuconazole sur la forte mortalité de la sauterelle. Cette différence avec nos résultats est due probablement au fait que l'association Prothioconazole+ Tebuconazole (Prosaro) ne provoque pas de mortalité chez *Aporrectodea caliginosa*, connue pour être plus résistante que d'autres espèces de vers de terre (**Pelosi et al., 2013**), que ce soit aux doses recommandées que ce soit aux fortes concentrations mais diminue en revanche leur taux de croissance. Ceci pourrait s'expliquer aussi par la non-affinité de ces molécules chimiques avec les systèmes biologiques des animaux (**kpan et al., 2018**).

Parallèlement, nous avons constaté que l'effet combiné des pesticides testés sur la mortalité du ver de terre était négatif, ce qui laisse penser à un effet antagoniste entre les pesticides utilisés. Les mêmes résultats ont été rapportés par **Chen et al. (2018)** qui ont constaté un effet antagoniste entre l'herbicide Tribenuron-méthyl et le fongicide Tebuconazole sur *Eisenia fetida*. Le même effet a été signalé également avec le triazophos et la deltaméthrine sur la mortalité d'*Eudrilus eugeniae* (**Singh et al., 2019**), avec l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4- D) et le Glyphosate chez *Eisenia fetida* (**Lazuricket al., 2017**) et avec le Glyphosate et Capitaine chez *Aporrectodea caliginosa* (**Springett & Gray, 1992**).

**Ainsi**, on pourrait expliquer ce phénomène par le fait que les doses utilisées ne sont pas mortelles, peu importe le traitement ou le temps d'exposition, mais en revanche elles agissent sur la croissance des vers de terre qui pourrait être due à la réduction de la prise d'aliments et l'utilisation de la majeure partie de l'énergie des aliments absorbés dans le métabolisme (**Lett et al., 1976**) développant ainsi des mécanismes de résistance afin d'améliorer leur capacité à survivre en présence de ces composés comme l'ont suggéré **Stellin et al. (2018)**.

Les résultats obtenus quant aux teneurs de protéines totales viennent appuyer cette hypothèse où nous avons signalé l'augmentation de ces derniers pour les différents traitements appliqués avec des pics observés après 14 jours pour les fortes concentrations de deltaméthrine (D2) et du traitement combiné (P2/D2). Cette augmentation chez ces espèces est due au déclenchement de leur système de défense antioxydant qui se met en place afin de

neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites lors de la métabolisation des différents pesticides.

Afin de mieux comprendre cet effet de tolérance de ces espèces, nous avons jugé utile de suivre l'évolution de certains biomarqueurs de stress. Dans notre travail, nous avons noté une diminution dose-dépendante du GSH parallèle à l'augmentation significative de l'activité GST. En réalité, l'un des facteurs qui contrôle la bioaccumulation et la toxicité des pesticides est la transformation métabolique, cependant, chez les vers de terre, les données sont limitées par rapport à d'autres espèces telles que par exemple les poissons (**Toshiyuki & Keiko, 2015**). Le phénomène de métabolisation des xénobiotiques implique une activation des systèmes enzymatiques de la phase I ainsi que les enzymes de la phase II tels que les glutathion-S-transférases (GST). Ces dernières sont des enzymes multifonctionnelles jouant un rôle essentiel dans la conjugaison des composés électrophiles inclus dans la métabolisation des xénobiotiques tels que le glutathion.

Dans le cas de nos molécules, la métabolisation se fait par des réactions d'hydroxylation, d'oxydation ou d'hydrolyse aboutissant à différents métabolites à savoir : l'hydroxy-tébuconazole pour le tébuconazole (**FAO, 1994**), le desthio-prothioconazole et le S ou O-prothioconazole glucuronide pour le prothioconazole et l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et l'acide décamétrique pour le deltaméthrine suivie par une conjugaison à l'acide glucuronique ou au sulfate (**Ruzo et al., 1979 ; IPCS, 1990**) et non pas au GSH ce qui implique que la GST n'intervient pas dans cette biotransformation. En revanche l'augmentation de la GST signalée dans notre travail pourrait être expliquée par le fait qu'elle soit également impliquée dans le transport et l'élimination de composés réactifs qui effectuent d'autres fonctions antioxydantes (**Sies, 1993 ; Livingstone, 2003**) telles que la Catalase, le glutathion et la superoxyde dismutase et aussi dans la défense contre les dommages oxydatifs des lipides et d'ADN induits par les produits peroxydés (**Van der Oost et al., 2003**). **Viera et al. (2009)** ont attribué cette augmentation au fait qu'elle joue le rôle de cofacteur de la glutathion peroxydase (GPX), enzyme antioxydante responsable de l'élimination des grandes quantités de ROS, qui nécessite plus de cofacteurs pour faire face au stress et par conséquent l'amélioration des niveaux de GST dans les cellules. La présence de ces pesticides dans le sol induit un stress oxydatif chez ces invertébrés qui se traduit par la formation des ROS qui sont pris en charge par le système de détoxification d'où l'appauvrissement en GSH (**Bhagat et al., 2016 ; Lee et al., 2012**).

En effet, à l'état réduit, la GSH reflète la compétence antioxydante des cellules et l'augmentation de sa forme oxydée (GSSG) indique un état de stress oxydatif (**Jin et al., 2010 ; Akerboom et Sies, 2017**). La GSH est maintenue en équilibre dans la cellule et ce processus est contrôlé principalement par sa synthèse de novo à partir des acides aminés via la voie du cycle g-glutamyle, et par la réduction catalysée du GSSG par le glutathion réductase (GR). La GSH joue également un rôle dans la synthèse des protéines, le transport des acides aminés, le stockage et le transport de la cystéine et maintient le statut thiol des protéines en empêchant l'oxydation des groupes -SH (**Belaid et Sbartai, 2020**). Cependant, on a constaté qu'à la fin du traitement, l'expression du GSH semble être sensible aux xénobiotiques où elle est fortement déclinée aux fortes concentrations (D2, P2/D2) par rapport aux témoins mais qui sont presque équivalentes suggérant ainsi que la deltaméthrine seule a le même effet que le traitement combiné (Prosaro/deltaméthrine) à ces concentrations due probablement à un effet antagoniste entre les deux pesticides. Des conclusions similaires ont été obtenues par **Mekahlia et al. (2016)** qui ont rapporté une induction de la GST chez les vers de terre *Lombricus terrestris* suite à une exposition à l'herbicide Sekator ainsi que ceux de **Xiao et al. (2006)** chez *Eisenia fetida* exposé à l'herbicide Acétochlore.

D'un autre côté, nous avons enregistré dans notre travail une augmentation de l'activité CAT pour les différents traitements ce qui est due probablement à la production du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**Farombi et al., 2008**) qui est elle-même stimulée par l'intervention de la superoxyde dismutase (SOD) afin de neutraliser le superoxyde formé suite à l'installation du stress oxydant généré par la présence de ces molécules chimiques. Le système SOD-CAT est considéré comme la première ligne de défense contre le stress oxydatif (**Pandey et al., 2003**). L'activité CAT consiste en une transformation du  $H_2O_2$  en eau et en oxygène moléculaire ( $O_2$ ). Or la production de  $H_2O_2$  est induite par la présence de composés exogènes à l'organisme comme notamment nos pesticides (**Brown et al., 2004**), cependant, ce dérivé réactif de l'oxygène peut entraîner l'oxydation des macromolécules (ADN, Lipides et protéines) (**Vlahogianni et al., 2007**). De nombreuses études ont montré des variations de l'activité de la CAT lors de l'exposition au pyréthriinoïdes tels que **Schreck et al. (2008)** qui ont signalé que les deux insecticides chlorpyrifos-éthyl et lambda-cyhalothrine ainsi que quatre autres fongicides pouvaient induire une augmentation de l'activité CAT chez *A. caliginosa nocturna* pendant les premiers jours de traitement. De même, **Givaudan et al., (2014)** ont observé une augmentation de cette activité enzymatique chez *A. caliginosa* dans des sols contaminés par les résidus de pesticides agricoles. Aussi, une augmentation de la

CAT a été constaté chez *Eisinia andrei* exposé au pirimiphos-méthyl et deltaméthrine (Velki & Hackenberger, 2013a), ainsi qu'au niveau de la paroi des vers *Eisinia foetida* exposé au diazinon dans un sol contaminé par le nickel (Zawisza-Raszka & Dolezych, 2013).

Nos résultats ont également révélé la diminution de l'activité AChE chez *A. caliginosa* après exposition aux différents traitements où les valeurs les plus marquées sont signalées aux plus fortes concentrations (P2, D2, P2/D2) et ce à après 14 jours. Cependant, les résultats obtenus aux doses recommandées semblent présenter une faible diminution de l'activité AChE sauf pour le traitement combiné (P1/D1). Cette inhibition est tout à fait logique chez les vers traités par le Decis (deltaméthrine) car cet insecticide est un pyretrinoïde connu pour être neurotoxique (Piner & Üner, 2014 ; Sharma et al., 2014 ; Osman Ahmed et al., 2015) et agit en hydrolysant l'acétylcholine, neurotransmetteur impliqué dans la transmission cholinergique (Heath et al., 1997) ce qui conduit à son accumulation au niveau des synapses cholinergiques, phénomène susceptible de provoquer des perturbations comportementales affectant plus particulièrement la locomotion et l'équilibre (Saglio et al., 1996). Par contre, le Prosaro (tebuconazole+ prothioconazole) est un fongicide qui est censé éliminer les champignons en agissant au niveau de la biosynthèse des stérols par inhibition des déméthylases. Cependant, plusieurs études ont rapporté, chez des insectes, l'impact de ces fongicides sur la synthèse d'hormone juvénile, les facteurs de croissance ou des ecdystéroïdes (Shiotsuki et al., 1999; Hirai et al., 2002; Bannenberg et al., 2003; Amrani et al., 2004; Shiotsuki & Kuwano 2004). Aussi, les composés triazoles peuvent agir comme agonistes des récepteurs gabaminergiques et causer une activité insecticide neurotoxique chez la mouche domestique (Alam et al., 2006) ce qui corrobore nos résultats où nous avons relevé une inhibition de cette enzyme chez le fongicide utilisé.

En dernier lieu, nous avons observé une stimulation de l'activité enzymatique LOX chez les vers de terre exposés aux différents traitements où cette activité est plus marquée aux fortes concentrations. D'après Gargouri et al. (2008), la voie de la lipoxygénase est activée lorsqu'il y'a un stress chimique ou mécanique qui dans notre cas est représenté par l'exposition aux différents pesticides. En effet, les lipoxygénases catalysent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (Buchert et al., 2007) tels que l'acide arachidonique (AA) qui est libéré de la membrane phospholipide par la Phospholipase A2 (PLA2) et métabolisé par trois voies enzymatiques : cyclooxygénases, lipoxygénases et cytochrome P450. Les LOX sont donc impliqués dans la biosynthèse des leucotriènes et des lipoxines qui sont considérés

comme des agents pro-inflammatoires potentiels, impliqués dans la physiopathologie de plusieurs maladies inflammatoires et dans les réactions d'hypersensibilité (**Homaidane et al., 2002**). Ce processus inflammatoire libère de nombreuses substances telles que les ROS qui peuvent induire des dommages sur les tissus et un stress oxydatif (**Biswas, 2016**) qui sont pris en charge par le système antioxydant d'où l'emballement de ce dernier lors de l'exposition aux pesticides étudiés aux fortes concentrations. En résumé, le stress oxydant engendré par l'exposition aux pesticides et plus précisément les traitements D2 et P2/D2 peuvent causer une inflammation tissulaire suite à l'intervention des LOX dans l'oxydation des lipides membranaires, et qui a pour conséquence une surproduction de ROS qui vont augmenter le stress oxydatif déjà installé.

## 2. Plante non cible : cas du Blé « *Triticum durum* »

L'impact des différents traitements (Prosaro, Decis, (Prosaro/Decis) sur *Triticum durum* a été évalué par une approche biologique à différentes échelles d'une organisation cellulaire en examinant les variations de plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques. Dans notre travail nous avons testé en premier lieu le niveau de chlorophylle qui est considérée comme un excellent biomarqueur de la toxicité des plantes sachant qu'il existe une forte corrélation entre les densités cellulaires et les paramètres de fluorescence photosynthétique dans la pollution environnementale (**Dewezet *et al.*, 2007**). Nos résultats montrent clairement une diminution des niveaux foliaires de la chlorophylle. Cette diminution peut être attribuée à l'inhibition de sa biosynthèse et à la photo-destruction des pesticides en réduisant la formation d'acide aminolévulinique (ALA) en tant que précurseur de la porphyrine végétale indispensable à la photosynthèse. De nombreux travaux ont rapporté l'effet négatif des pesticides sur les teneurs en chlorophylle chez les feuilles de blé exposées à des fongicides (Artea, Punch et Paclobutrazol) et des herbicides (Cossack et Sékator) (**Berova *et al.*, 2002 ; Youbi *et al.*, 2005 ; Ferfar *et al.*, 2016**). De même, **Liu *et al.*, (2021)** ont montré que l'exposition foliaires du blé tendre (*Triticum aestivum* L) au difénoconazole induisait une diminution des teneurs en chlorophylle entraînant une perturbation de la photosynthèse ainsi que l'inhibition de la croissance.

Parallèlement, nous nous sommes concentrés sur la réponse et la régulation du système de défense du blé vis-à-vis de ces deux xénobiotiques. En effet, l'augmentation des teneurs en protéines totales observée en fonction des concentrations croissantes des deux pesticides ainsi que des combinaisons chez les feuilles et les racines de blé nous renseigne sur l'état de stress de la plante. **Gardés-Albert *et al.*, (2003)** relie cette augmentation au fait que la plante cherche à protéger son intégrité morpho-physiologique en réponse aux dommages induits par les xénobiotiques. En d'autres termes, l'accumulation de protéines est une stratégie de tolérance au stress moléculaire qui est directement liée à une surproduction de ROS. Ainsi, les dommages oxydatifs peuvent être réduits par l'activation du système de défense antioxydant pour éliminer ces ROS (**Pompeu *et al.*, 2017 ; Arfaoui *et al.*, 2018**) d'où l'induction des protéines totales.

En effet, pour faire face à la génération de ROS, les plantes renforcent leur action antioxydante du système de défense enzymatique et non enzymatique (**Hasanuzzaman *et al.*, 2020**). Ainsi, la diminution du GSH enregistré chez les deux compartiments feuilles et racines

de blé viennent appuyer l'hypothèse de l'induction du système de défense de la plante pour lui permettre de tolérer cet état de stress. La GSH, antioxydant non-enzymatique, est un thiol de faible poids moléculaire impliqué dans un large éventail de processus métaboliques et constitue un important système de défense des plantes contre les stress environnementaux, y compris les pesticides (**Hossainet et al., 2012**). Cette diminution pourrait s'expliquer par le fait que la GSH pourrait établir une liaison directe avec les pesticides ou leurs métabolites (**Galaris et al., 2002**). Cette interaction glutathion-pesticide a lieu grâce à l'intervention de la GST qui permet cette conjugaison durant la phase II de la métabolisation (**Belaid et Sbartai, 2021**) ceci est confirmé par nos résultats qui indiquent une induction de la GST en présence des pesticides testés. Dans le cas du deltaméthrine, du tébuconazole et le prothioconazole, la métabolisation se fait par des réactions d'hydroxylation, d'oxydation ou d'hydrolyse aboutissant à différents métabolites suivis par une conjugaison à l'acide glucuronique ou au sulfate (**Ruzo et al., 1979 ; IPCS, 1990**) et non pas au GSH ce qui implique que la GST n'intervient pas dans cette biotransformation. Ainsi l'augmentation de la GST pourrait donc être expliquée par le fait qu'elle soit également impliquée dans le transport et l'élimination de composés réactifs qui effectuent d'autres fonctions antioxydantes (**Livingstone, 2003**) telles que la CAT, le GSH et la SOD et aussi dans la défense contre les dommages oxydatifs des lipides et d'ADN induits par les produits peroxydés (**Van der Oost et al., 2003**). Cependant, on a constaté qu'à la fin du traitement, l'expression du GSH semble être très sensible aux xénobiotiques où elle est fortement déclinée aux fortes concentrations (D2, P2/D2) par rapport aux témoins mais qui sont presque équivalentes suggérant ainsi que la deltaméthrine seule a le même effet que le traitement combiné (Prosaro/deltaméthrine) à ces concentrations due probablement à un effet antagoniste entre les deux pesticides.

D'un autre côté, nous avons enregistré l'induction de l'activité CAT aux différents traitements ce qui témoigne de l'état du stress oxydant par excellence. Le changement de l'activité CAT est expliqué par des lésions cellulaires causées par l'exposition à des contaminants (**Shijin et al., 2011**). Nos résultats corroborent ceux de **Ferfar et al., (2016)** qui ont signalé une augmentation de cette activité chez deux variétés de blé (Simeto et Cirta) exposées à deux herbicides sulfonilurées, chez les feuilles et les racines de blé « *Triticum aestivum L* ». De même les résultats de **Belahcene et al.,(2015)** qui ont mis en exergue l'influence du stress oxydatif causé par un herbicide systémique Cossack sur l'activité CAT de trois variété de blé dur (Sersou, Carioca et Wersenis) où une variabilité génotypique très importante a été notée issue de la réponse de chaque variété vis-à-vis du stress appliqué.

Enfin, l'augmentation de l'activité LOX constatée lors de notre étude pourrait être due à la peroxydation des acides linoléique et linoléique. La formation des dérivées d'oxydation dans la bicouche lipidique, tels que le 4-hydroxy-2-nonenal, le malondialdéhyde ou les phytoprostanes, entraînent des perturbations de la micro-architecture des membranes, altère leur perméabilité et peut agir avec les fonctions amines des lipides, des protéines et de l'ADN, ainsi qu'avec les fonctions thiols des protéines. En effet, ces produits de peroxydation lipidiques sont des espèces électrophiles réactives (RES) qui peuvent se lier de façon covalente aux protéines et ainsi les endommager (**Farmer et al., 2007**). La peroxydation lipidique en formant des aldéhydes entraîne la destruction des structures, inhibe les fonctions cellulaires et accélère potentiellement la sénescence des cellules (**Dann& Pell, 1989**).

***CHAPITRE V.***  
***CONCLUSION ET PERSPECTIVES***

L'intensification des cultures pour avoir un meilleur rendement et satisfaire une population en plein expansion a poussé le secteur agricole en Algérie à s'aligner avec les normes internationales. Ainsi, l'utilisation massive des pesticides et la manipulation parfois abusive et incorrecte ont augmenté ces dix dernières années ayant comme conséquences des effets néfastes sur la santé humaine, les agriculteurs en premier, ainsi qu'une perturbation des écosystèmes.

L'enquête établie, dans la région agraire d'El-Tarf, nous a permis de conclure que dans la majorité des cas les agriculteurs sont conscients des risques engendrés par l'utilisation des pesticides, cependant ils banalisent ces risques et ne les prennent pas au sérieux parfois en négligeant le port d'EPI ou en oubliant de prendre des précautions avant et après l'exposition. Malgré cela, les réponses apportées lors de ce questionnaire nous ont rassurés dans l'ensemble mais restent insuffisantes pour établir un lien de causalité entre l'apparition de pathologies et l'exposition aux produits phyto-chimiques. D'ailleurs plusieurs études ont rapporté des effets directs de certains produits comme le cas du DBCP qui a des conséquences sur la fertilité masculine, ou d'autres qui sont responsables de problèmes nerveux.

Il est donc urgent d'agir dans ce sens afin d'avoir une agriculture durable d'un côté et de préserver l'environnement de l'autre. Il est essentiel de sensibiliser les agriculteurs à l'emploi rationnel des pesticides en organisant des formations, des ateliers et en distribuant des documentations afin qu'ils réduisent les quantités utilisées ou bien pour adopter d'autres techniques. Il faut également que les autorités concernées durcissent la réglementation en matière de vente de ces produits ainsi que pour leur utilisation et mettre en place un système de surveillance de la présence de résidus afin d'intervenir au moment opportun.

En se basant sur les données collectées lors de notre enquête, nous avons entamé une étude éco-toxicologique qui avait pour but de déterminer les effets négatifs probables que peuvent subir les espèces non-cibles lors de la pulvérisation de doses recommandées de pesticides. Pour cela, nous avons ainsi choisie le Prosaro XRT (fongicides) et le Decis EC25 (insecticide) qui se sont révélés être les deux pesticides les plus utilisés dans la région par les agriculteurs.

L'idée était de reproduire le même protocole suivi en plein champ où il s'agit de pulvériser le fongicide en premier pour prévenir les maladies cryptogamiques et un mois plus

tard rajouter l'insecticide. Les deux modèles utilisés étaient le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* et une variété de blé dur *Triticum durum*.

Les premiers résultats obtenus ont révélé que le Prosaro, le Decis (deltaméthrine) ainsi que leurs associations n'affectent pas la survie du lombric *Aporrectodea caliginosa* pendant toute la période d'exposition (7 et 14 jours) mais ralenties leur croissance, que ce soit aux doses recommandées que ce soit leurs doubles. Les réductions les plus marquées à savoir 31,62% et 35,04% sont rapportées après 14 jours pour les fortes concentrations (D2) de l'insecticide seul (Decis EC 25) ainsi que pour le traitement combiné Prosaro/Decis (P2/D2). Nous avons également observé la diminution de l'activité AChE qui est plus prononcée chez les vers traités par les fortes concentrations que par ceux exposés aux doses recommandées. D'un autre côté, l'application de ces doses ont provoqué des perturbations des teneurs en chlorophylle qui est plus prononcée à la fin du traitement (14 jours). Cette perturbation s'est traduite par une diminution significative des teneurs en chlorophylles a, b essentiellement pour les traitements combinés Prosaro/Decis (P1/D1 et P2/D2) ainsi que les fortes concentrations des deux produits seuls (P2, D2). Nous signalons que cette diminution est plus marquée à la fin de la période d'exposition.

Concernant les biomarqueurs, nous avons signalé une diminution des taux de GSH, une augmentation des teneurs en protéines ainsi qu'une induction de toutes les activités enzymatiques étudiées (CAT, GST, et LOX) chez les deux espèces. Ainsi, il s'avère que ces espèces non ciblées sont sensibles aux différentes concentrations appliquées même celles recommandées en plein champ entraînant l'induction d'un système de défense antioxydant afin de tolérer des conditions de stress probablement liées au fitness de l'espèce. Aussi, il apparaît que le Decis (deltaméthrine) est plus toxique que le Prosaro puisque les résultats ont démontré que les réponses au Decis seul (D2) et au traitement combiné (P2/D2) sont identiques et supérieures à celles du Prosaro seul. Ces résultats physiologiques et biochimiques suggèrent ainsi la mise en place d'un mécanisme de défense afin de neutraliser les radicaux libres générés par le stress appliqué chez ces deux organismes.

En outre, cette production des ROS pourrait être due à l'installation d'un stress réducteur provoqué par ces pesticides, même à concentration acceptables, qui est défini comme étant un déséquilibre entre les niveaux des pro-oxydants et la capacité réductrice au profit de ces derniers. Ainsi ce stress réducteur pourrait être à l'origine d'un stress oxydant et pourrait induire lui-même des altérations des fonctions cellulaires.

En conclusion, toutes ces informations pourraient nous aider à formuler des contre-mesures pour réduire le risque de contamination par les pesticides dans la production agricole.

## Perspectives

Afin de compléter ce travail et avoir ainsi une vision plus globale de l'incidence des pesticides sur la santé et l'environnement, il serait judicieux de :

- Approfondir les enquêtes et les étaler sur plusieurs régions agricoles afin d'avoir une meilleure vision de l'utilisation des pesticides.
- Evaluer les risques sanitaires et écologiques d'autres régions.
- Elargir notre spectre de travail en incluant les populations avoisinantes dans les questionnaires.
- Quantifier les résidus de pesticides dans les fruits et légumes pour estimer la contamination réelle par les pesticides.
- Réaliser le dosage des résidus de pesticides afin d'estimer la quantité de ces derniers dans les différents compartiments de l'environnement (eau, sol).
- Evaluer l'impact de ces pesticides sur d'autres modèles biologiques : escargots, oiseaux, mammifères, espèces aquatiques....
- Compléter l'évaluation du stress oxydatif via d'autres biomarqueurs de stress.
- Faire une étude in situ pour mieux apprécier l'impact des pesticides sur ces organismes et sur d'autres modèles biologiques.
- Essayer des solutions alternatives pour réduire l'utilisation massive des pesticides telles que les huiles essentielles.

## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

1. ACTA (2006). Index phytosanitaire. Paris: Action de Coordination des Techniques Agricoles, 824 p. adduction by seven organophosphorus pesticides in both brain and thymus. *Hum Exp Toxicol.* 26(4); 347-353.
2. Ait-hamlet, B. S. (2013). *Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols Helix aspersa (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en Biologie Animale, Université Badji Mokhtar–Annaba, 177p).*
3. Akerboom, T., & Sies, H. (2017). Glutathione transport and its significance in oxidative stress. In *Glutathione (1990)* (pp. 45-56). CRC Press.
4. Alam, M. S., Kaur, G., Jabbar, Z., Javed, K., & Athar, M. (2006). Evaluation of antioxidant activity of Salix caprea flowers. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(6), 479-483.
5. Altenhofen, S., Nabinger, D. D., Wiprich, M. T., Pereira, T. C. B., Bogo, M. R., & Bonan, C. D. (2017). Tebuconazole alters morphological, behavioral and neurochemical parameters in larvae and adult zebrafish (Danio rerio). *Chemosphere*, 180, 483-490.
6. Amalric, L., Baran, N., Jeannot, R., Martin, J. C., & Mouvet, C. (2003). I nappes et les méthodes d'analyse des produits phytosanitaires dans les eaux I Rapport final.
7. Amamra, R., Djebar, M. R., Grara, N., Moumeni, O., Otmani, H., Alayat, A., & Berrebbah, H. (2015). Cypermethrin-induces oxidative stress to the freshwater Ciliate model: Paramecium tetraurelia. *Annual Research & Review in Biology*, 385-399.
8. Ambolet-Camoit, A., Kim, M. J., Leblanc, A., & Aggerbeck, M. (2012). Les polluants organiques persistants: implication dans l'obésité et le syndrome métabolique. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 47(4), 183-192.
9. Amrani, L., Zerguine, K., Farine, J. P., Smagghe, G., & Soltani-Mazouni, N. (2004). Imidazole derivative KK-42 reduces ecdysteroid titers and interferes with reproductive processes in adult females of Tenebrio molitor. *Pesticide biochemistry and physiology*, 80(3), 163-172.
10. ANSES, 2010. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France Synthèse et conclusions
11. Anthérieu, S. (2007). Role of MAP kinases ERK1/2 and oxidative stress in epidermal homeostasis perturbation by the organochlorine pesticides.
12. Arfaoui A, El Hadrami A, Daayf F (2018) Pre-treatment of soybean plants with calcium

stimulates ROS responses and mitigates infection by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Physiol Biochem* 122:121–128

13. Atkin, M. A., Gasper, A., Ullegaddi, R., & Powers, H. J. (2005). Oxidative susceptibility of unfractionated serum or plasma: response to antioxidants in vitro and to antioxidant supplementation. *Clinical Chemistry*, 51(11), 2138-2144.
14. Atlas des Pesticides 2023, Heinrich-Böll-Stiftung Paris & La Fabrique écologique”
15. Aubertot, J.-N., Barbier, J.-M., Carpentier, A., Gril, J.-J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Voltz, M., 2005. Pesticides, agriculture et environnement.
16. AXELROD, B. (1981). Lipoxygenase from soybeans. *Methods enzymol*, 71, 441-451.
17. Bannenberg, G., Martin, H. J., Bélai, I., & Maser, E. (2003). 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1: tissue-specific expression and reductive metabolism of some anti-insect agent azole analogues of metyrapone. *Chemico-biological interactions*, 143, 449-457.
18. Bart, S., Amossé, J., Lowe, C. N., Mougin, C., Péry, A. R., & Pelosi, C. (2018). *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(34), 33867-33881.
19. Bart, S., Pelosi, C., Barraud, A., Péry, A. R., Cheviron, N., Grondin, V., ... & Crouzet, O. (2019). Earthworms mitigate pesticide effects on soil microbial activities. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1535.
20. Beckett, G.J., Hayes, J.D., 1993. *Glutathione S-transferases: biomedical applications. Advances in Clinical Chemistry*, 30, p.281-380.
21. Belahcene, N., Mouaïssia, W., Zenati, N., & Djebbar, M. R. (2015). Etude de l'effet d'un stress oxydatif cause par un herbicide systémique 'COSSACK' sur le blé dur (*Triticum durum Desf.*).
22. Belaid, C., & Sbartai, I. (2021). Assessing the effects of Thiram to oxidative stress responses in a freshwater bioindicator cladoceran (*Daphnia magna*). *Chemosphere*, 268, 128808.
23. Belaid, C., Sbartai, I., & Djebbar, M. R. (2019). Populational effect of a dithiocarbamate (Thiram) fungicide on a freshwater cladocerus *Daphnia magna* . *Studia Universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 29(3), 121-128.
24. Bernabò, I., Guardia, A., Macirella, R., Sesti, S., Crescente, A., & Brunelli, E. (2016). Effects of long-term exposure to two fungicides, pyrimethanil and tebuconazole, on survival and life history traits of Italian tree frog (*Hyla intermedia*). *Aquatic Toxicology*, 172, 56-66.
25. Berova, M., Zlatev, Z., & Stoeva, N. (2002). Effect of paclobutrazol on wheat seedlings

under low temperature stress. *Bulg. J. Plant Physiol*, 28(1-2), 75-84.

26. Bettiche, F., Chaib, W., Halfadji, A., Mancer, H., Bengouga, K., & Grunberger, O. (2021). The human health problems of authorized agricultural pesticides: The Algerian case. *Microbial Biosystems*, 5(2), 69-82.

27. Bhagat, J., Ingole, B. S., & Singh, N. (2016). Glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and lipid peroxidation as biomarkers of oxidative stress in snails: A review. *Invertebrate Survival Journal*, 13(1), 336-349.

28. Biswas, S. K. (2016). Does the interdependence between oxidative stress and inflammation explain the antioxidant paradox?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 5698931.

29. Blair, A., Ritz, B., Wesseling, C., & Freeman, L. B. (2015). Pesticides and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(2), 81-82.

30. Blattner, J. R., Safety, P., & Murray, F. J. (2012). Deltamethrin Has Not Been Clearly Shown to Cause Reproductive Toxicity.

31. Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., ... & Brun, J. J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*, 64(2), 161-182.

32. Bocquené, G., & Galgani, F. (1998). Biological effects of contaminants: cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds.

33. Bottinelli, N., Henry-des-Tureaux, T., Hallaire, V., Mathieu, J., Benard, Y., Tran, T. D., & Jouquet, P. (2010). Earthworms accelerate soil porosity turnover under watering conditions. *Geoderma*, 156(1-2), 43-47.

34. Bouché M.B. (1972). Lombriciens de France, Ecologie et systématique. Inst. Nat.Rech. Agronomique, Paris, pp 671.

35. Bougrouz, H., & Boualague, A. (2018). *Effet d'un insecticide néonicotinoïde sur quelques paramètres biochimiques chez «Helix aspersa»* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

36. Bordjiba, O., & Ketif, A. (2009). Effet de trois pesticides (Hexaconazole, Bromuconazole et Fluazifop-p-butyl) sur quelques métabolites physio-biochimiques du blé dur: *Triticum durum*. Desf. *European Journal of Scientific Research*, 36(2), 260-268.

37. Bonnefont-Rousselot, D., Théron, P., & Delattre, J. (2003). Radicaux libres et anti-oxydants. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Paris: Flammarion, 59-81.

38. Bradford M.M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram;

quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, 72: 248-254.

39. Bradlow, H. L., Davis, D. L., Lin, G., Sepkovic, D., & Tiwari, R. (1995). Effects of pesticides on the ratio of 16 alpha/2-hydroxyestrone: a biologic marker of breast cancer risk. *Environmental Health Perspectives*, 103(suppl 7), 147-150.

40. Bravo, V., Rodríguez, T., Joode, B. V. W. D., Canto, N., Calderón, G. R., Turcios, M., ... & Wesseling, C. (2011). Monitoring pesticide use and associated health hazards in Central America. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 17(3), 258-269.

41. Brown, P.J., Long, S.M., Spurgeon, D.J., Svendsen, C. and Hankard, P.K. (2004). Toxicological and Biochemical Responses of the Earthworm *Lumbricus rubellus* to Pyrene, a Non- Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. *Chemosphere*. 57, 1675-1681.

42. Buchert, J., Selinheimo, E., Kruus, K., Mattinen, M. L., Lantto, R., & Autio, K. (2007). Using crosslinking enzymes to improve textural and other properties of food. In *Novel enzyme technology for food applications* (pp. 101-139). Woodhead Publishing.

43. Buralli, R. J., Ribeiro, H., Mauad, T., Amato-Lourenço, L. F., Salge, J. M., Diaz-Quijano, F. A., ... & Guimarães, J. R. D. (2018). Respiratory condition of family farmers exposed to pesticides in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *International journal of environmental research and public health*, 15(6), 1203.

44. Cakmak I. & Horst W. J. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*glycine max*). *Physiol. Plant*, 83, 463-468.

45. Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Charnay, M. P., & Coquet, Y. (2005). Rétenion des pesticides dans le sol. Ch 4. *Les Pesticides dans le Sol: Conséquences Agronomiques et Environnementales*, 161-233.

46. Calvert, J. G. (2008). Mechanisms of atmospheric oxidation of the alkanes.

47. Calviello, G., Piccioni, E., Boninsegna, A., Tedesco, B., Maggiano, N., Serini, S., ... & Palozza, P. (2006). DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: involvement of the oxidative mechanism. *Toxicology and applied pharmacology*, 211(2), 87-96.

48. Carter, W. G., Tarhoni, M., Rathbone, A. J., and Ray, D. E., 2007. Differential protein

49. Casida, J. E., & Bryant, R. J. (2017). The ABCs of pesticide toxicology: amounts, biology, and chemistry. *Toxicology research*, 6(6), 755-763.

50. Castro, T. F. D., da Silva Souza, J. G., de Carvalho, A. F. S., de Lima Assis, I., Palmieri, M. J., Vieira, L. F. A., ... & Murgas, L. D. S. (2018). Anxiety-associated behavior and

genotoxicity found in adult *Danio rerio* exposed to tebuconazole-based commercial product. *Environmental toxicology and pharmacology*, 62, 140-146.

51. Chen, J., Saleem, M., Wang, C., Liang, W., & Zhang, Q. (2018). Individual and combined effects of herbicide tribenuron-methyl and fungicide tebuconazole on soil earthworm *Eisenia fetida*. *Scientific reports*, 8(1), 1-9.

52. Chiali, F. Z., Merzouk, H., Merzouk, S. A., Medjdoub, A., & Narce, M. (2013). Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 106(1-2), 38-44.

53. Correia, F. V., & Moreira, J. C. (2010). Effects of glyphosate and 2, 4-D on earthworms (*Eisenia fetida*) in laboratory tests. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 85(3), 264-268.

54. Cortet, J., Gomot-De Vaufleury, A., Poinot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35(3), 115-134.

55. Coupe, R. H. Manning, M.A., Foreman, W.T., Goolshy, D.A. and Majewski, M.S.2000. Occurrence of Pesticides in rain and air in urban and agricultural areas of the Mississippi April- Septembre 1995. *Science of the total environment*, 248, 227-240.

56. Dann Michael, Pell Eva. 1989. Decline of activity and quantity of ribulose biphosphate carboxylase 85 oxygenase and net photosynthesis in ozone-treated potato foliage. *Plant Physiology* 91,427-432. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.91.1.427>.

57. Das, P. P., Shaik, A. P., and Jamil, K., 2007. Genotoxicity induced by pesticide mixtures: invitro studies on human peripheral blood lymphocytes. *Toxicol Ind Health*. 23(8); 449-458.

58. Dewez T, Rohmer J. et Closset L. (2007). Laser survey and mechanical modeling of chalky sea cliff collapse in Normandy, France, in Mc Innes R., Jakeways J., Fairbanks H. et Mathie E., (eds) *Landslide and climate change*, Taylor and Francis, London, pp.281-288.

59. Ding, Y., Chen, Y. P., Zhang, X., Chen, L., Dong, Z., Jiang, H. L., ... & Zhou, H. C. (2017). Controlled intercalation and chemical exfoliation of layered metal-organic frameworks using a chemically labile intercalating agent. *Journal of the American Chemical Society*, 139(27), 9136-9139.

60. Ďuračková, Z., & Gvozdjáčová, A. (2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress. In *Mitochondrial medicine* (pp. 19-54). Springer, Dordrecht. during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiol. Biochem.*, 44 : 25-37.

61. Edwards, C. A., & Bohlen, P. J. (1996). *Biology and ecology of earthworms* (Vol. 3). Springer Science & Business Media

62. 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.
63. Ehrhardt, N. (2006). *Etude de l'activité d'une formulation à 50% de deltaméthrine sur Stomoxys calcitrans à la Réunion: résistance et rémanence* (Doctoral dissertation).
64. Ellman G L, Courtney K D, Andres Jr V, Featherstone R M, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7, 88-95, 1961.
65. EPA Office of Pesticide Programs (2017) Chemicals evaluated for carcinogenic potential, annual cancer report 2017.
66. European Food Safety Authority (EFSA). (2017). Peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine disrupting properties of glyphosate. *EFSA Journal*, 15(9), e04979.
67. FAO Reeves, T. G., Thomas, G., & Ramsay, G. (2016). Produire plus avec moins en pratique: le maïs, le riz, le blé. Guide pour une production céréalière durable.
68. FAO, 2021. FAOSTAT. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy
69. FAO/WHO (1994) Joint Meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment and the WHO expert group on pesticide residues. *Rome*, 19-28 September 1994
70. FAOSTAT (2020) Food and Agricultural Organization of the United Nations.
71. Fan, C., Liang, Y., Dong, H., Ding, G., Zhang, W., Tang, G., ... & Cao, Y. (2017). In-situ ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction using a new anion-exchange reagent combined Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for determination of pyrethroid pesticides in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 975, 20-29.
72. Farmer, E. E., & Davoine, C. (2007). Reactive electrophile species. *Current opinion in plant biology*, 10(4), 380-386.
73. Farombi, E. O., Ajimoko, Y. R., & Adelowo, O. A. (2008). Effect of butachlor on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in fresh water African catfish,(*Clarias gariepinus*). *International journal of environmental research and public health*, 5(5), 423-427.
74. Fournier, A., Rollin, O., Le Féon, V., Decourtye, A., & Henry, M. (2014). Crop-emptying rate and the design of pesticide risk assessment schemes in the honey bee and wild bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(1), 38-46.
75. Fowler, B. A., Hildebrand, C. E., Kojima, Y., & Webb, M. (1987). Nomenclature of metallothionein. In *Metallothionein II* (pp. 19-22). Birkhäuser, Basel

76. Frankart, C., Eullaffroy, P., & Vernet, G. (2002). Photosynthetic responses of *Lemna minor* exposed to xenobiotics, copper, and their combinations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53(3), 439-445.
77. Frery N, Saoudi A, Garnier R, Zeghnoun A, Falq G, Guldner L. 2010. *Exposition de la population française aux polluants de l'environnement, Volet environnemental de l'étude nationale nutrition santé, Premiers résultats. Institut de veille sanitaire. 12pp.*
78. Galaris, D., & Evangelou, A. (2002). The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. *Critical reviews in oncology/hematology*, 42(1), 93-103.
79. Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® (Doctoral dissertation).
80. Gardés-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003). Espèce réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*.
81. Gargouri, M., Akacha, N. B., Kotti, F., & Rejeb, I. B. (2008). Voie de la lipoxygénase: valorisation d'huiles végétales et biosynthèse de flaveurs. *BASE*.
82. George, S. G., & Buchanan, G. (1990). Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione-S-transferases. *Fish Physiology and Biochemistry*, 8(6), 437-449.
83. Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, 39(1), 103-110.
84. Givaudan, N., Binet, F., Le Bot, B., & Wiegand, C. (2014). Earthworm tolerance to residual agricultural pesticide contamination: field and experimental assessment of detoxification capabilities. *Environmental Pollution*, 192, 9-18.
85. Grue, C. E., Gibert, P. L., & Seeley, M. E. (1997). Neurophysiological and behavioral changes in non-target wildlife exposed to organophosphate and carbamate pesticides: thermoregulation, food consumption, and reproduction. *American zoologist*, 37(4), 369-388.
86. Gutman, A., Joly, S., Brodeur, J., Gagnon, A. È., & Labrie, G. (2019). Impact des fongicides foliaires et des néonicotinoïdes sur le puceron du soya et ses ennemis naturels.
87. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. (1974). Glutathione-S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 249, 7130-7139.
88. Hafez, Y., Attia, K., Alamery, S., Ghazy, A., Al-Doss, A., Ibrahim, E., ... & Abdelaal, K. (2020). Beneficial effects of biochar and chitosan on antioxidative capacity, osmolytes accumulation, and anatomical characters of water-stressed barley plants. *Agronomy*, 10(5), 630.
89. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

- 90.** Hall, F. R., Reichard, D. L., & Alm, S. R. (1987). A system for examination of the pesticide dose transfer process. In *Pesticide Formulations and Application Systems: Seventh Volume*. ASTM International.
- 91.** Hamsan, M. H., Shukur, M. F., & Kadir, M. F. Z. (2017). NH 4 NO 3 as charge carrier contributor in glycerolized potato starch-methyl cellulose blend-based polymer electrolyte and the application in electrochemical double-layer capacitor. *Ionics*, 23, 3429-3453.
- 92.** Haraguchi, H., Saito, T., Okamura, N., & Yagi, A. (1995). Inhibition of lipid peroxidation and superoxide generation by diterpenoids from *Rosmarinus officinalis*. *Planta Medica*, 61(04), 333-336.
- 93.** Harman, W. L. (2002). Cropman: A Crop Production And Risk Management Model For Agricultural Practitioners.
- 94.** Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JA, Fujita M, Fotopoulos V (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants* 9:681.
- 95.** Hayes, J. D., Judah, D. J., McLellan, L. I., & Neal, G. E. (1991). Contribution of the glutathione S-transferases to the mechanisms of resistance to aflatoxin B1. *Pharmacology & therapeutics*, 50(3), 443-472.
- 96.** Heath, A. G., Cech Jr, J. J., Brink, L., Moberg, P., & Zinkl, J. G. (1997). Physiological responses of fathead minnow larvae to rice pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37(3), 280-288.
- 97.** Helander, M., Saloniemi, I., & Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Trends in plant science*, 17(10), 569-574.
- 98.** Hirai, T., & Matsui, M. (2002). Feeding ecology of *Bufo japonicus formosus* from the montane region of Kyoto, Japan. *Journal of Herpetology*, 36(4), 719-723.
- 99.** Holden, M. (1975). Chlorophylls I, chemistry and biochemistry of plant pigments. 2<sup>ème</sup> edition. T.W. Goodwin. *Academic press Edition*. New York., 1-37.
- 100.** Holland, P. T., Hamilton, D., Ohlin, B., & Skidmore, M. W. (1994). Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *Pure and applied chemistry*, 66(2), 335-356.
- 101.** Homaidan, Fadia R., et al. "Protein regulators of eicosanoid synthesis: role in inflammation." *Current Protein and Peptide Science* 3.4 (2002): 467-484.
- 102.** Hossain MA, Piyatida P, da Silva JAT, Fujita M, Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *Journal of Botany* 872875

- 103.** Hossain, M. A., Hoque, M. A., Burritt, D. J., & Fujita, M. (2014). Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms. In *Oxidative damage to plants* (pp. 477-522). Academic press.
- 104.** Horton, M. K., Rundle, A., Camann, D. E., Boyd Barr, D., Rauh, V. A., & Whyatt, R. M. (2011). Impact of prenatal exposure to piperonyl butoxide and permethrin on 36-month neurodevelopment. *Pediatrics*, *127*(3), e699-e706.
- 105.** IPCS World Health Organization. (1990). Ipcs. *Environmental health criteria*, 101, 60-99.
- 106.** Irace-Guigand, S., Aaron, J. J., Scribe, P., & Barcelo, D. (2004). A comparison of the environmental impact of pesticide multiresidues and their occurrence in river waters surveyed by liquid chromatography coupled in tandem with UV diode array detection and mass spectrometry. *Chemosphere*, *55*(7), 973-981
- 107.** ISO (International Organisation for Standardization) (2008) Soil quality— avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour—part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) No. 17512–1. Geneva
- 108.** ISO (International Organisation for Standardization) (2012a) Soil quality— effects of pollutants on earthworms—Part 1: determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/ *Eisenia andrei*. No. 11268-1. Geneva
- 109.** ISO (International Organisation for Standardization) (2012b) Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*). Part 2: determination of effects on reproduction—No. 11268–2. Geneva
- J ONES, C.G., LAWTON, J.H. & S HACHAK, M. (1994). — Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, *69* : 373-386
- 110.** Jacobsen-Pereira, C. H., Dos Santos, C. R., Maraslis, F. T., Pimentel, L., Feijó, A. J. L., Silva, C. I., ... & Maluf, S. W. (2018). Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. *Ecotoxicology and environmental safety*, *148*, 177-183.
- 111.** Jiao, T., Hassan, M. M., Zhu, J., Ali, S., Ahmad, W., Wang, J., ... & Li, H. (2021). Quantification of deltamethrin residues in wheat by Ag@ ZnO NFs-based surface-enhanced Raman spectroscopy coupling chemometric models. *Food chemistry*, *337*, 127652.
- 112.** Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z. (2010). Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, *78*: 846–852.
- 113.** Juntarawijit, C., & Juntarawijit, Y. (2018). Association between diabetes and pesticides: a case-control study among Thai farmers. *Environmental Health and Preventive Medicine*, *23*, 1-10.

- 114.** journal officiel, 2010 : Décret n°10-69 du 15 Safar 1431 correspondant au 31 janvier 2010 fixant les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole.
- 115.** Kaliora, A. C., Dedoussis, G. V. Z., & Schmidt, H. (2006). Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 187(1), 1-17.
- 116.** Kamal, S., Junaid, M., Bibi, I., Rehman, S., Rehman, K., & Akash, M. S. H. (2021). Role of Pesticides as EDCs in Metabolic Disorders. *Endocrine Disrupting Chemicals-induced Metabolic Disorders and Treatment Strategies*, 265-300.
- 117.** Kautenburger, R. (2006). Impact of different agricultural practices on genetic structure of *Lumbricus terrestris*, *Arion lusitanicus* and *Microtus arvalis*. *Animal Biodiversity and Conservation*, 29(1), 19-32.
- 118.** Kelce, W. R., Stone, C. R., Laws, S. C., Gray, L. E., Kemppainen, J. A., & Wilson, E. M. (1995). Persistent DDT metabolite p, p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375(6532), 581-585.
- 119.** Key, P. B., Wirth, E. F., & Fulton, M. H. (2006). A review of grass shrimp, *Palaemonetes* spp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. *Environmental Bioindicators*, 1(2), 115-128.
- 120.** Kherifi, w., & kherici-bousnoubra, h. (2017). Correlation between the variability of hydrological parameters with altitude in the el tarf region (northeast algeria). *Larhyss journal p-issn 1112-3680/e-issn 2521-9782*, (30), 137-147.
- 121.** Knebel, C., Buhrke, T., Süßmuth, R., Lampen, A., Marx-Stoelting, P., & Braeuning, A. (2019). Pregnane X receptor mediates steatotic effects of propiconazole and tebuconazole in human liver cell lines. *Archives of Toxicology*, 93, 1311-1322.
- 122.** Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2013). Wildlife ecotoxicology of pesticides : can we track effects to the population level and beyond ?. *Science*, 341(6147), 759-765.
- 123.** Kpan, G. K. K., Ehouman, M. N. G., Toure, M., Brou, L. Y., Tiho, S., Traore, S. K., & Dembele, A. (2018). Toxicité d'un Herbicide à base de Glyphosate sur le ver de Terre *Eudrilus Eugeniae* KINBERG, 1867 (Oligochaeta, Eudrilidae).
- 124.** Kumar, S., Kaushik, G., & Villarreal-Chiu, J. F. (2016). Scenario of organophosphate pollution and toxicity in India: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 9480-9491.
- 125.** Kurth, J. A., & Kier, W. M. (2015). Differences in scaling and morphology between lumbricid earthworm ecotypes. *Journal of Experimental Biology*, 218(18), 2970-2978.
- 126.** Lander, F., Knudsen, L. E., Gamborg, M. O., Järventausta, H., & Norppa, H. (2000).

Chromosome aberrations in pesticide-exposed greenhouse workers. *Scandinavian journal of work, environment & health*, 436-442.

127. Lavelle, P., & Spain, A. V. (2001). Soil organisms. *Soil ecology*, 201-356.

128. Lazurick, C., Lidzbarski, N., Owings, R., Brotherton, J., & Steele, E. (2017). Investigating the toxicity and accumulation of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) and glyphosate in *Eisenia fetida*. *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15(2), 6.

129. LE B LANC G.A., 1995. Are environmental sentinels signalling Environmental Health Perspectives, 103, 888-890

130. Ledirac, N., Antherieu, S., d'Uby, A. D., Caron, J. C., & Rahmani, R. (2005). Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicological Sciences*, 86(2), 444-452.

131. Lee, B., Duong, C. N., Cho, J., Lee, J., Kim, K., Seo, Y., ... & Yoon, J. (2012). Toxicity of citrate-capped silver nanoparticles in common carp (*Cyprinus carpio*). *BioMed Research International*, 2012.

132. Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). *Stress oxydant et pathologies humaines: Bilan et perspectives préventives*. *La Presse médicale*, 30(21), 1076-1081.

132. Leonard, R., (1990). Pesticide movement into surface waters. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modeling*, 303-349.

133. Lee C C, Peters P J., 1976. Neurotoxicity and behavioral effects of thiram in rats. *Environmental health perspectives*, 17, 35-43

134. Li, Q., & Kawada, T. (2006). The mechanism of organophosphorus pesticide-induced inhibition of cytolytic activity of killer cells. *Cell. Mol. Immunol*, 3(3), 171-178.

135. Li, S.Y., Sun, Q.Q., Wu, Q., Gui, W.J., Zhu, G.N., Schlenk, D., 2019a. Endocrine disrupting effects of tebuconazole on different life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Pollut.* 249, 1049-1059.

136. Li, S.Y., Wu, Q., Sun, Q., Coffin, S., Gui, W.J., Zhu, G.N., 2019b. Parental exposure to tebuconazole causes thyroid endocrine disruption in zebrafish and developmental toxicity in offspring. *Aquat. Toxicol.* 211, 116-123.

137. Linders, J. B. H. J., Jansma, J. W., Mensink, B. J. W. G., & Otermann, K. (1994). *Pesticides: Benefaction or Pandora's Box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides*.

138. Liu, R., Li, J., Zhang, L., Feng, T., Zhang, Z., & Zhang, B. (2021). Fungicide difenoconazole induced biochemical and developmental toxicity in wheat (*Triticum aestivum*

L.). *Plants*, 10(11), 2304.

139. Livingstone D.R. (2003). Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Rev Med Vet.*, 154: 427–430.

140. Lowe, C. N., & Butt, K. R. (2007). Life-cycle traits of the dimorphic earthworm species *Allolobophora chlorotica* (Savigny, 1826) under controlled laboratory conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 43, 495-499.

141. Lyons, G., 2000. Mixed messages : pesticides that confuse hormones. *Pesticides Action Network UK*.

142. Madhun, Y. A., & Freed, V. H. (1990). Impact of pesticides on the environment. *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling*, 2, 429-466.

143. Mamane, A., Baldi, I., Tessier, J. F., Raheison, C., & Bouvier, G. (2015). Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *European Respiratory Review*, 24(136), 306-319.

144. Martin, C. A., Schier, J., Chang, A., Gurley, E., Hossain, M. J., Rahman, M., ... & Husain, M. M. (2011). Investigation of an outbreak of unintentional acute pesticide poisoning: assessment of exposure to carbamate and organophosphate insecticides, rural Bangladesh, 2009. *Epidemiology*, 22(1), S115.

145. Martin, N.A., 1986. Toxicity of pesticides to *Allolobophora caliginosa* (Oligochaeta: lumbricidae). *New Zealand journal of agricultural research*, 29 (4), 699–706.

146. Mates JM, Perez-Gomez C and Nunez de Castro I (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 32, 595-603.

147. Matés, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153: 83–104.

148. Medina-Navarro, R., Durán-Reyes, G., Díaz-Flores, M., & Vilar-Rojas, C. (2010). Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function. *PLoS One*, 5(1), e8971.

149. Mekahlia, M. N., Tine, S., Menasria, T., Amieur, H., & Salhi, H. (2016). In vitro biomarker responses of earthworm *Lumbricus terrestris* exposed to herbicide sekator and phosphate fertilizer. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227, 1-8.

150. Merhi, M. (2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin (Doctoral dissertation).

151. Meriem, F., Leila, M. A., Noudjoud, G., Nabila, M., Maroua, B., & Reda, D. M. (2016). Phytotoxic effects of a sulfonylurea herbicide on two varieties of durum wheat (*Triticum*

- durumDesf). *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 5(4).
168. Morillon, A. (2016). *Les risques liés à l'utilisation des pesticides: enquête auprès des agriculteurs du Poitou-Charentes* (Doctoral dissertation).
151. Moser, V. C., 2007. Animal models of chronic pesticide neurotoxicity. *Hum Exp Toxicol.* 26(4); 321-331.
152. Moumeni, O., Berrebbah, H., Azzouz, Z., Amamra, R., Otmani, H., Alayat, A., ... & Djebbar, M. R. (2016). Effects of cycloxydim on population growth, phagocytosis, contractile vacuole activity and antioxidant responses in the freshwater ciliate (Paramecium tetraurelia). *Research Journal of Environmental Toxicology*, 10(2), 115-125.
153. Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 367(1-2), 36-47.
154. Naravaneni, R., and Jamil, K., 2007. Determination of AChE levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. *Human and Experimental Toxicology*.26(9); 723-731.
155. Nieradko-Iwanicka, B., & Borzęcki, A. (2015). Subacute poisoning of mice with deltamethrin produces memory impairment, reduced locomotor activity, liver damage and changes in blood morphology in the mechanism of oxidative stress. *Pharmacological reports*, 67(3), 535-541.
156. Noriane Cognez, 2020. Exposition résidentielle aux pesticides pendant la grossesse et santé du jeune enfant. Thèse de doctorat en Biologie Santé, Université de Rennes 1, France.
157. OECD (1984) Guideline for the testing of chemicals.No. 207.Earthworm, acute toxicity tests. *OECD Publishing*, Paris.
158. OECD, 2004. Organization for Economic Cooperation and Development. Guidelines for Testing of Chemicals: Essay of immediate immobilization. Procedure 202. Paris, France.
159. OliveiraT., 2012. Dynamique des communautés lombriciennes dans les parcelles conduites en Agriculture Biologique. Modélisation de la dynamique des populations d'Aporrectodea caliginosa. Biologie animale. AgroParisTech. Français
160. Osman Ahmed, S. A. Mastan S. Rabia Banu and P. Indira. (2015). Sub-lethal effect of cypermethrin on acetylcholinesterase (AChE) activity and acetylcholine (Ach) content in selected tissues of Channa striatus (Bloch.). *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*. Vol. 7(4), 31-37. <https://doi: 10.5897/JTEHS2015.0334>
161. Otmani, H., Tadjine, A., Moumeni, O., Zeriri, I., Amamra, R., Samira, D. B., ... & Berrebbah, H. (2018). Biochemical responses of the earthworm Allolobophora caliginosa

exposed to cadmium contaminated soil in the Northeast of Algeria. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.

162. Packer L, Tritschler HJ and Wessel K (1997) Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 22, 359-378.

163. Pandey S., Parvez S., Sayeed I., Haque R., Bin-Hafeez B. & Raisuddin S., (2003). Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). *Sci. Total Environ.*, 309: 105–115.

164. Paoletti, M. G. (1999). Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. In *Invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes* (pp. 1-18). Elsevier.

165. Patel, S., & Sangeeta, S. (2019). Pesticides as the drivers of neuropsychotic diseases, cancers, and teratogenicity among agro-workers as well as general public. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 91-100.

166. Patrick, L. (2006). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative medicine review*, 11(2)

167. Pearce, R. E., Vakkalagadda, G. R., & Leeder, J. S. (2002). Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro I. Characterization of human cytochromes P450 responsible for the formation of 2-and 3-hydroxylated metabolites. *Drug metabolism and disposition*, 30(11), 1170-1179.

168. Peitl, P. J., Sakamoto-Hojo, E. T., and de Syllos Colus, I. M., 1996. Genotoxic activity of the insecticide Nuvacron (Monocrotophos) detected by the micronucleus test in bone marrow erythrocytes of mice and in CHO cells. *Brazilian journal of Genetics*. 19(4);571-576..

169. Pelosi, C., Joimel, S., & Makowski, D. (2013). Searching for a more sensitive earthworm species to be used in pesticide homologation tests—a meta-analysis. *Chemosphere*, 90(3), 895-900.

170. Pimentel D. 1995. *Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics*. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 8, 17-29.

171. Pimentel, D., McLaughlin, L., Zepp, A., Lakitan, B., Kraus, T., Kleinman, P., ... & Selig, G. (1993). Environmental and economic impacts of reducing US agricultural pesticide use. *The pesticide question: environment, economics, and ethics*, 223-278.

172. Piner, P., & Üner, N. (2014). Organic insecticide spinosad causes in vivo oxidative effects in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology*, 29(3), 253-260.

173. Pompeu GB, Vilhena MB, Gratao PL, Carvalho RF, Rossi ML, Martinelli AP, Azevedo

- RA (2017) Abscisic acid-deficient sit tomato mutant responses to cadmium-induced stress. *Protoplasma* 254:771–783
174. Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical interventions in aging*, 2(2), 219-236.
175. Rastrelli, L., Totaro, K., & De Simone, F. (2002). Determination of organophosphorus pesticide residues in Cilento (Campania, Italy) virgin olive oil by capillary gas chromatography. *Food Chemistry*, 79(3), 303-305.
176. Rathore, H. S., & Nollet, L. M. (Eds.). (2012). *Pesticides: evaluation of environmental pollution*. CRC press.
177. Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207.
178. Regoli, F., & Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic toxicology*, 31(2), 143-164.
179. Rodriguez-Campos, J., Dendooven, L., Alvarez-Bernal, D., & Contreras-Ramos, S. M. (2014). Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: a review. *Applied Soil Ecology*, 79, 10-25.
180. Rio, M. J., and Velez-Pardo, C., 2008. Paraquat induces apoptosis in human lymphocytes: protective and rescue effects of glucose, cannabinoids and insulin-like growth factor- 1. *Growth Factors*. 26(1); 49-60.
181. Ruzo, L. O., Engel, J. L., & Casida, J. E. (1979). Decamethrin metabolites from oxidative, hydrolytic and conjugative reactions in mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 27(4), 725-731.
182. Sabatier, R., Meyer, K., Wiegand, K., & Clough, Y. (2013). Non-linear effects of pesticide application on biodiversity-driven ecosystem services and disservices in a cacao agroecosystem: A modeling study. *Basic and Applied Ecology*, 14(2), 115-125.
183. SAGE, Colin. *Environment and food*. Routledge, 2011.
184. Saglio, P., Trijasse, S., & Azam, D. (1996). Behavioral effects of waterborne carbofuran in goldfish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 31, 232-238.
185. Saillenfait, A. M., Ndiaye, D., & Sabaté, J. P. (2015). Pyrethroids: exposure and health effects—an update. *International journal of hygiene and environmental health*, 218(3), 281-292.

186. Sancho, E., Villarroel, M. J., & Ferrando, M. D. (2016). Assessment of chronic effects of tebuconazole on survival, reproduction and growth of *Daphnia magna* after different exposure times. *Ecotoxicology and environmental safety*, 124, 10-17.
187. Saulsbury, M. D., Heyliger, S. O., Wang, K., & Round, D. (2008). Characterization of chlorpyrifos-induced apoptosis in placental cells. *Toxicology*, 244(2-3), 98-110.
188. Savigny JC (1826) Analyse d'un Mémoire sur les Lombrics par Cuvier. Mem Acad Sci Inst Fr 5:176–184
189. Sbartai Ibtissem.; Berebbah Houria.; Sbartai Hana.; Djebbar Mohamed Réda. (2012) Evaluation of the Toxicity of Hydrazine Carboxylate (Bifenazate) and an Oxadiazine (Indoxacarb) Grara Nedjoud Observed in a Unicellular Eukaryote: *Paramecium* Sp. *Advances in Environmental Biology*, 6(8): 2249-2258.
190. Sbartai, I., Berrebbah, H., Rouabhi, R., Sbartai, H., Guy, S., & Djebbar, M. R. (2009). Behavior of *Paramecium* sp. treated with bifenazate with special emphasis on respiratory metabolism, protein and generation time. *American-Eurasian J. Toxicol. Sci*, 1, 13-18.
- 191.** Sbartai Ibtissem, & Sbartai Hana (2021). Antioxidant activities and lipid peroxidation in the freshwater bioindicator *Paramecium* sp. exposed to hydrazine carboxylate (Bifenazate). *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 25(1), 257-268
- 192.** Scheibmeir, H. D., Christensen, K., Whitaker, S. H., Jegaethesan, J., Clancy, R., & Pierce, J. D. (2005). A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 21(1), 24-28.
- 193.** Scheyer, A., Graeff, C., Morville, S., Mirabel, P., & Millet, M. (2005). Analysis of some organochlorine pesticides in an urban atmosphere (Strasbourg, east of France). *Chemosphere*, 58(11), 1517-1524.
- 194.** Schmidt, J. A., Rinaldi, S., Scalbert, A., Ferrari, P., Achaintre, D., Gunter, M. J., ... & Travis, R. C. (2016). Plasma concentrations and intakes of amino acids in male meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans: a cross-sectional analysis in the EPIC-Oxford cohort. *European journal of clinical nutrition*, 70(3), 306-312.
- 195.** Schreck, E., Geret, F., Gontier, L., & Treilhou, M. (2008). Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa nocturna*. *Chemosphere*, 71(10), 1832-1839.
- 196.** Seeber, J., Scheu, S., & Meyer, E. (2006). Effects of macro-decomposers on litter decomposition and soil properties in alpine pastureland: a mesocosm experiment. *Applied Soil Ecology*, 34(2-3), 168-175.
- 197.** Sekli-Belaidi, F., Evrard, D., & Gros, P. (2011). Evidence of an EC' mechanism

occurring during the simultaneous assay of ascorbic and uric acids on poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) modified gold microsensor. *Electrochemistry Communications*, 13(5), 423-425.

**198.** Serra, A. A., Nuttens, A., Larvor, V., Renault, D., Couée, I., Sulmon, C., & Gouesbet, G. (2013). Low environmentally relevant levels of bioactive xenobiotics and associated degradation products cause cryptic perturbations of metabolism and molecular stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of experimental botany*, 64(10), 2753-2766.

**199.** Serra, A. A., Couée, I., Bittebière, A. K., Ernoult, A., Mony, C., Gouesbet, G., & Sulmon, C. (2015, October). Réponses du compartiment végétal aux contaminations multiples résiduelles de pesticides au sein des bandes enherbées. In *Colloque Biennal des Zones Ateliers*.

**200.** Serra, A. A., Alberto, D., Sulmon, C., Gouesbet, G., & Couée, I. (2016). Implications des communautés végétales péri-agricoles dans la dynamique environnementale des pollutions par les pesticides. *Revue d'Écologie*, 71(3), 203-221.

**201.** Sharma, R., Sahoo, A., Devendran, R. and Jain, M. 2014. Over-expression of a rice Tau class glutathione S-transferase gene improves tolerance to salinity and oxidative stresses in *Arabidopsis*. [http://doi : 10.1371/ journal.pone.0092900](http://doi:10.1371/journal.pone.0092900).

**202.** Shentu, X. P., Li, D. T., Xu, J. F., She, L., & Yu, X. P. (2016). Effects of fungicides on the yeast-like symbiotes and their host, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 128, 16-21.

**203.** SHI, J. J., & SUN, W. (2011). Effect of benzotriazole as corrosion inhibitor for reinforcing steel in cement mortar. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 27(6), 1457-1466.

**204.** Shiotsuki, T., Yukuhiro, F., Kiuchi, M., & Kuwano, E. (1999). Effect of 1-(4-phenoxyphenoxypropyl) imidazole (KS-175) on larval growth in the silkworm *Bombyx mori*. *Journal of insect physiology*, 45(12), 1049-1055.

**205.** Sies H. (1993). Strategies of antioxidant defenses. *Eur J Bio-chem.*, 215: 213–219.

**206.** Sies H., 1985. *Oxidative stress: introductory remarks*. H. Sies editor: *Academic Press, London*, 12.

**207.** Singh, S., Tiwari, R. K., & Pandey, R. S. (2019). Acute toxicity evaluation of triazophos, deltamethrin and their combination on earthworm, *Eudrilus eugeniae* and its impact on AChE activity. *Chemistry and Ecology*, 35(6), 563-575.

**208.** Singh, Z., Kaur, J., Kaur, R., & Hundal, S. S. (2016). Toxic effects of organochlorine pesticides: a review. *Am. J. BioSci*, 4(3), 11.

**209.** Slimani, S., Boulakoud, M. S., & Abdennour, C. (2011). Pesticide exposure and

reproductive biomarkers among male farmers from north-east Algeria. *Ann Biol Res*, 2(2), 290-7.

**210.** Smalling, K. L., Kuivila, K. M., Orlando, J. L., Phillips, B. M., Anderson, B. S., Siegler, K., ... & Hamilton, M. (2013). Environmental fate of fungicides and other current-use pesticides in a central California estuary. *Marine pollution bulletin*, 73(1), 144-153.

**211.** Sonchieu, J., Srivastava, A. K., Ngassoum, B. M., Tchatchueng, J. B., & Srivastava, L. P. (2017). Contamination of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) and derived products by residues of banned pesticides in Cameroon: Health risk estimation. *J. Pestic*, 104, 147-160.

**212.** Springett, J. A., Gray, R. A. J., Reid, J. B., & Petrie, R. (1994). Deterioration in soil biological and physical properties associated with kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Applied Soil Ecology*, 1(3), 231-241.

**213.** Spurgeon DJ, Weeks JM, Van Gestel CAM (2003) A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. *Pedobiologia* 47: 588–606.

**214.** Stallones, L., & Beseler, C. (2002). Pesticide poisoning and depressive symptoms among farm residents. *Annals of epidemiology*, 12(6), 389-394.

**215.** Stellin, F., Gavinelli, F., Stevanato, P., Concheri, G., Squartini, A., & Paoletti, M. G. (2018). Effects of different concentrations of glyphosate (Roundup 360®) on earthworms (*Octodrilus complanatus*, *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa*) in vineyards in the North-East of Italy. *Applied soil ecology*, 123, 802-808.

**216.** Stepić, S., Hackenberger, B. K., Velki, M., Lončarić, Ž., & Hackenberger, D. K. (2013). Effects of individual and binary-combined commercial insecticides endosulfan, temephos, malathion and pirimiphos-methyl on biomarker responses in earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(2), 715-723.

**217.** Sun, W., Shahrajabian, M. H., & Cheng, Q. (2020). Pyrethrum an organic and natural pesticide.

**218.** Tian, L., Huang, D., Shi, Y., Han, F., Wang, Y., Ye, H., ... & Yu, H. (2019, March). Method for the analysis of 7 indicator polychlorinated biphenyls (PCBs) and 13 organochlorine pesticide residues in sediment by gas chromatography (GC). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 237, p. 022053). IOP Publishing.

**219.** Toshiyuki Katagi and Keiko Ose. (2015). Toxicity, bioaccumulation and metabolism of pesticides in the earthworm. *J. Pestic. Sci.* 40(3), 69–81.

**220.** Suñol, C., Babot, Z., Fonfría, E., Galofré, M., Garcia, D., Herrera, N., ... & Vendrell, I. (2008). Studies with neuronal cells: from basic studies of mechanisms of neurotoxicity to the prediction of chemical toxicity. *Toxicology in Vitro*, 22(5), 1350-1355.

- 221.** Syberg, K., & Hansen, S. F. (2016). Environmental risk assessment of chemicals and nanomaterials—the best foundation for regulatory decision-making?. *Science of the Total Environment*, 541, 784-794.
- 222.** Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.
- 223.** Van Dyk, J. S., & Pletschke, B. (2011). Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. *Chemosphere*, 82(3), 291-307.
- 224.** Velki, M., & Hackenberger, B. K. (2013). Biomarker responses in earthworm *Eisenia andrei* exposed to pirimiphos-methyl and deltamethrin using different toxicity tests. *Chemosphere*, 90(3), 1216-1226
- 225.** Vieira, L. R., Gravato, C., Soares, A. M. V. M., Morgado, F., & Guilhermino, L. (2009). Acute effects of copper and mercury on the estuarine fish *Pomatoschistus microps*: linking biomarkers to behaviour. *Chemosphere*, 76(10), 1416-1427.
- 226.** Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, M. J., & Valavanidis, A. (2007). Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 54(9), 1361-1371.
- 227.** Wandscheer, A. C., Marchesan, E., Santos, S., Zanella, R., Silva, M. F., Londero, G. P., & Donato, G. (2017). Richness and density of aquatic benthic macroinvertebrates after exposure to fungicides and insecticides in rice paddy fields. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1), 355-369.
- 228.** Wang, R., Li, Z., Wang, Y., Gui, J.F., 2011. An Apo-14 promoter-driven transgenic zebrafish that marks liver organogenesis. *Plos One* 6, e22555.
- 229.** Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.
- 230.** Winge, D. R., & Miklossy, K. A. (1982). Domain nature of metallothionein. *Journal of Biological Chemistry*, 257(7), 3471-3476.
- 231.** Worrall, F. and Kelpin, D.W. 2004. Aquifer vulnerability to pesticide pollution – combining soil, land-use and aquifer properties with molecular descriptors. *Journal of Hydrology*, 293,191-204
- 232.** Xiao N, Jing B, Ge F, Liu X, (2006). The fate of herbicide acetochlor and its toxicity to *Eisenia fetida* under laboratory conditions. *Chemosphere* 62, 1366-1373.

- 231.** Bao, X., Xu, W., Cui, J., Yan, Z., Wang, J., Chen, X., & Meng, Z. (2023). NMR-based metabolomics approach to assess the ecotoxicity of prothioconazole on the earthworm (*Eisenia fetida*) in soil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *190*, 105320.
- 232.** Yang, X., Wang, F., Meng, L., Zhang, W., Fan, L., Geissen, V., & Ritsema, C. J. (2014). Farmer and retailer knowledge and awareness of the risks from pesticide use: A case study in the Wei River catchment, China. *Science of the total environment*, *497*, 172-179.
- 233.** Yasmin, S., & D'Souza, D. (2007). Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *79*, 529-532.
- 234.** Youbi, M. (2005). *Effets des deux fongicides artea et punch nouvellement introduits en algérie sur la physiologie et le métabolisme respiratoire du blé dur (triticum du rum desf)* (Doctoral dissertation, Annaba).
- 235.** Yu, L., Chen, M., Liu, Y., Gui, W., Zhu, G., 2013. Thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae following exposure to hexaconazole and tebuconazole. *Aquat.Toxicol.* *138*, 35-42.
- 236.** Zawisza-Raszka, A., & Dolezych, B. (2013). Nickel in soil modifies sensitivity to diazinon measured by the activity of acetylcholinesterase, catalase, and glutathione S-transferase in earthworm *Eisenia fetida*. *Applied and Environmental Soil Science*, 2013.
- 237.** Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). *Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression.* *Free Radical Biology and Medicine*, *33*(3), 337-349.
- 238.** Zeriri, I., Tadjine, A., Belhaouchet, N., Berrebbah, H., Djebbar, M.R., Baha, M., 2013. Contribution to the identification of Oligochaeta: Lumbricidae in the region of Annaba in eastern Algeria. *European Journal of Experimental Biology*, *3*(6), 229-232.
- 239.** Zhang, K. M., & Wexler, A. S. (2004). Evolution of particle number distribution near roadways—Part I: analysis of aerosol dynamics and its implications for engine emission measurement. *Atmospheric Environment*, *38*(38), 6643-6653. to tebuconazole causes thyroid endocrine disruption in zebrafish and developmental toxicity in offspring. *Aquat. Toxicol.* *211*, 116-123
- 240.** Zhou, Y., Yang, H., Liu, S., Yuan, X., Mao, Y., Liu, Y., & Zhang, F. (2006). Feeding and growth on bivalve biodeposits by the deposit feeder *Stichopus japonicus* Selenka (Echinodermata: Holothuroidea) co-cultured in lantern nets. *Aquaculture*, *256*(1-4), 510-520.

# **ANNEXES**

## Annexes 1

### 1. Questionnaire

La date de l'enquête: .....

Wilaya .....Commune .....

Lieu-dit exploitation.....

Réalisation d'une enquête auprès des agriculteurs afin de recueillir des informations concernant l'emploi des produits phytosanitaires et les risques toxiques encourus.

Merci de bien vouloir répondre aux questions suivantes :

#### A- Questions relatives à l'agriculteur

1. Etes- vous : homme  femme

2. Quel âge avez-vous ? (catégorie d'âge)

< 25 ans                       36 à 45 ans                       > 55 ans  
 25 à 35 ans                       46 à 55 ans

3. Quel est votre niveau d'étude :

Non diplômé                       Diplôme agricole                       autres

4. Depuis combien d'années exercez-vous ? (durée de travail)

< 5 ans                       16 à 25 ans  
 06 à 15 ans                       > 25 ans

5. Etes-vous :

Chef d'exploitation                       ouvrier agricole

6. Etes-vous : (type de culture)

Céréaliier                       maraicher                       Arboriculteur                       Autres

#### B- Questions relatives à l'utilisation des pesticides

1. Quelles sont les maladies les plus rencontrées dans votre exploitation ?

Maladies cryptogamiques                       M. bactériennes  
 M. virales                       Ravageurs

2. Utilisez- vous des pesticides ?  Oui  Non

3. Lisez-vous l'étiquette du produit:

Fréquent  parfois  rarement

4. Utilisez- vous les équipements de protection individuelle (port de gants, masque, bottes, vêtements)

Fréquent  parfois  rarement

5. Respectez-vous les règles d'hygiène personnelle

(Se laver les mains et le visage après avoir manipuler des pesticides et avant de manger, boire, fumer ou aller aux toilettes. A la fin d'une période de travail avec des pesticides, prendre une douche et mettre des vêtements propres)

Fréquent  parfois  rarement

6. Respectez-vous les délais de rentrée dans la parcelle une fois traité :

(Après le traitement vous restez dans le champ ou pas ?)

Fréquent  parfois  rarement

7. Respectez-vous les règles de contamination, d'entreposage et de transport :

Fréquent  parfois  rarement

8. Comment choisissez-vous les produits, les doses à utiliser :

Par vous même  à l'aide d'un technicien  autres

9. Quels sont les pesticides que vous utilisez

Pesticides Catégorie	Type de culture	Nom commercial	Matière active	Action Systémique / contact	Maladie traitée
Insecticide					
Fongicide					

<b>Herbicide</b>					

**10. Quels sont les moyens et les appareils utilisés :**

vérificateur                       manuel                       autres

**11. Quelle est la durée d'exposition ?**

**12. Avez-vous réduit votre consommation de pesticides :**

Oui                       Non

**13. Pour quelles raisons ?**

Méthodes alternatives (binage, rotation)       produits plus efficace  
 Respect de l'environnement      le cout  autre

**14. Respectez-vous les doses ?**

Fréquent                       parfois                       rarement

**C- Questions relatives à l'état de santé de l'agriculteur**

**1. Etes-vous fumeur ?**

Oui                       Non

**2. Si « oui » depuis quand ?**

**3. Avez-vous des pathologies chroniques ? (maladies antécédents)**

Respiratoires       Cardiovasculaires       Endocriniennes      Autres

**4. Depuis quand avez-vous ces pathologies ?**

**5. Avez-vous été victime d'un effet indésirable suite à l'utilisation des pesticides ?**

Oui                       Non

**6. Si oui le / lesquels : (cutané, respiratoire, ORL...) .....**

**7. Connaissez-vous les risques, pour votre santé, liés à l'utilisation des pesticides ?**

Oui                       Non

## Annexe 2

**Tableau 1. Répartition des agriculteurs selon la classe d'âge**

Daira	Classe d'âge				
	< 25	25-35	36-45	46-55	> 55
Besbes	0		1	4	3
Dréan	0		2	4	4
Benmhidi	0		3	3	3
Bouteldja	0		1	4	5
Elkala	0		0	4	6
Eltaref	0		2	3	5
Bouhadjar	0		5	2	3
pourcentage	0	4%	20	3	4

**Tableau 2. Répartition des agriculteurs selon le niveau d'étude**

DAIRA	Niveau d'étude	
	Diplômé	Non diplômé
Besbes	1	9
Dréan	2	8
Benmhidi	1	9
Bouteldja	2	8
Elkala	2	8
Eltaref	6	4
Bouhadjar	7	3
pourcentage	30%	70%

**Tableau 3. Répartition des agriculteurs selon l'ancienneté**

Daira	Nombre d'années exercées			
	<5	6-15	16-25	>25
Besbes	0	4	0	6
Dréan	0	4	3	3
Benmhidi	0	4	4	2
Bouteldja	0	3	2	5
Elkala	0	1	2	7
Eltaref	0	0	4	6
Bouhadjar	0	2	5	3
<b>pourcentage</b>	<b>0</b>	<b>25%</b>	<b>29%</b>	<b>46%</b>

**Tableau 4. Répartition des agriculteurs selon leurs statuts**

Daira	Statut de l'agriculteur	
	Chef exploitation	Ouvrier agricole
Besbes	6	4
Dréan	4	6
Benmhidi	3	7
Bouteldja	4	6
Elkala	0	10
Eltaref	4	6
Bouhadjar	4	6
<b>pourcentage</b>	<b>35%</b>	<b>65%</b>

**Tableau 5. Répartition des agriculteurs selon la culture**

Daira	Culture			
	céréale	arboriculture	maraichage	légume sec
Besbes	3	2	3	2
Dréan	3	5	1	1
Benmhidi	2	2	5	1
Bouteldja	5	1	1	3
Elkala	0	3	6	1
Eltaref	3	3	4	0
Bouhadjar	4	2	0	4
Pourcentage	<b>29%</b>	<b>26%</b>	<b>28%</b>	<b>17%</b>

**Tableau 6. Répartition des agriculteurs selon l'état de fumer**

Daira	fumer	
	Oui	Non
Besbes	3	7
Dréan	4	6
Benmhidi	4	6
Boutelja	0	10
Elkala	2	8
Eltaref	3	7
Bouhajar	2	8
Pourcentage	<b>26%</b>	<b>74%</b>

**Tableau 7. Répartition des agriculteurs selon leurs états de santé**

daira	Maladies chroniques	
	Oui	non
Besbes	2	8
Dréan	3	7
Benmhidi	1	9
Boutelja	2	8
Elkala	1	9
Eltaref	1	9

Bouhajar	1	9
Pourcentage	16%	84%

**Tableau 8. Maladies rencontrées dans les parcelles**

	Maladies rencontrées dans les parcelles		
	fongiques	ravageurs	Virales et bactériennes
Pourcentage (%)	5	4	4

**Tableau 9. Répartition des agriculteurs selon l'utilisation des pesticides**

Daira	Utilisation des pesticides	
	oui	non
Besbes	10	0
Dréan	10	0
Benmhidi	10	0
Boutelja	10	0
Elkala	5	5
Eltaref	10	0
Bouhajar	10	0
Pourcentage	93%	7%

**Tableau 10. Répartition des agriculteurs selon le choix des pesticides**

Daira	Choix des pesticides			
	par eux-mêmes	avec l'aide d'un technicien	avec l'aide d'un professionnel	PV
Besbes	3	4	2	1
Dréan	7	0	2	1
Benmhidi	7	0	2	1
Boutelja	6	1	1	0
Elkala	3	0	2	0
Eltaref	3	1	4	2
Bouhajar	7	1	1	1
Pourcentage	51%	10%	20%	9%

**Tableau 11. Répartition des agriculteurs selon le respect de la lecture d'étiquette**

Daira	Lecture d'étiquettes		
	équent	parfois	rarement
Besbes	8	1	1
Dréan	9	1	0
Benmhidi	6	2	2
Boutelja	4	5	1
Elkala	2	2	1
Eltaref	8	0	2
Bouhajar	5	5	0
Pourcentage	<b>67%</b>	<b>23%</b>	<b>10%</b>

**Tableau 12. Répartition des agriculteurs selon le port des EPI**

Daira	Utilisation des EPI		
	équent	parfois	rarement
Besbes	6	3	1
Dréan	4	6	0
Benmhidi	3	4	3
Boutelja	3	5	2
Elkala	1	3	1
Bouhajar	5	3	2
Pourcentage	<b>39%</b>	<b>40%</b>	<b>14%</b>

**Tableau 13. Répartition des agriculteurs selon le respect des règles d'hygiène**

Daira	Respect des règles hygiène		
	équent	parfois	rarement
Besbes	8	2	0
Dréan	10	0	0
Benmhidi	9	1	0
Boutelja	10	0	0
Elkala	4	1	0
Eltaref	10	0	0
Bouhajar	10	0	0
Pourcentage	<b>86%</b>	<b>6%</b>	<b>0</b>

**Tableau 14. Répartition des agriculteurs selon le respect des délais de rentrée à la parcelle**

Daira	Respect de délais de rentrée à la parcelle		
	équent	parfois	rarement
Besbes	8	2	0
Dréan	8	1	1
Benmhidi	7	0	3
Boutelja	7	1	3
Elkala	3	1	1
Eltaref	6	1	3
Bouhajar	9	1	0
Pourcentage	<b>73%</b>	<b>10%</b>	<b>17%</b>

**Tableau 15. Répartition des agriculteurs selon le respect des règles de contamination et de stockage**

Daira	Respect des règles de contamination et de stockage		
	équent	parfois	rarement
Besbes	9	1	0
Dréan	9	1	0
Benmhidi	6	1	3
Boutelja	6	3	1
Elkala	4	1	0
Eltaref	10	0	0
Bouhajar	9	1	0
Pourcentage	<b>75%</b>	<b>11%</b>	<b>6%</b>

**Tableau 16. Répartition des agriculteurs selon les moyens d'utilisation lors d'application des pesticides**

Daira	Moyens utilisés		
	Pulvérisateur	manuel	Autre
Besbes	10	0	
Dréan	10	0	
Benmhidi	10	0	
Boutelja	10	0	

<b>Elkala</b>	5	0	5
<b>Eltaref</b>	10	0	
<b>Bouhajar</b>	10	0	
<b>Pourcentage</b>	<b>93%</b>	<b>0</b>	<b>7%</b>

**Tableau 17. Répartition des agriculteurs selon le respect de la durée d'exposition**

<b>Daira</b>	<b>Durée d'exposition heure / jour</b>		
	<b>1 – 5</b>	<b>6 – 10</b>	<b>+10</b>
<b>Besbes</b>	6	4	0
<b>Dréan</b>	4	4	2
<b>Benmhidi</b>	5	3	2
<b>Boutelja</b>	4	5	1
<b>Elkala</b>	1	2	2
<b>Eltaref</b>	4	6	0
<b>Bouhajar</b>	3	7	0
<b>Pourcentage</b>	<b>40%</b>	<b>44%</b>	<b>10%</b>

**Tableau 18. Répartition des agriculteurs selon le respect de la dose**

<b>Daira</b>	<b>Respect de la dose</b>	
	<b>Oui</b>	<b>non</b>
<b>Besbes</b>	10	0
<b>Dréan</b>	10	0
<b>Benmhidi</b>	9	1
<b>Boutelja</b>	10	1
<b>Elkala</b>	5	5
<b>Eltaref</b>	9	1
<b>Bouhajar</b>	9	1
<b>Pourcentage</b>	<b>89%</b>	<b>6%</b>

**Tableau 19. Quantité de pesticides utilisés (%)**

<b>Daira</b>	<b>Quantité (L) / ans</b>			
	<b>fongicide</b>	<b>herbicide</b>	<b>insecticide</b>	<b>autres</b>
<b>Besbes</b>	219	70	164	
<b>Dréan</b>	130	62	50	
<b>Benmhidi</b>	116	53	112	
<b>Boutelja</b>	78	46	60	
<b>Elkala</b>	50	59	14	
<b>Eltaref</b>	61	44	18	

Bouhajar	119	60	38	
Pourcentage	<b>65%</b>	<b>5%</b>	<b>30%</b>	

**Tableau 20. Répartition des agriculteurs selon la réduction de l'utilisation des pesticides**

Daira	Réduction des pesticides	
	Oui	non
Besbes	0	10
Dréan	0	10
Benmhidi	1	9
Boutelja	0	10
Elkala	5	5
Eltaref	1	9
Bouhajar	1	9
Pourcentage	<b>11%</b>	<b>89%</b>

**Tableau 21. Effets indésirables rencontrés chez les agriculteurs**

daira	Victime d'effet indésirable	
	Oui	non
Besbes	2	8
Dréan	2	8
Benmhidi	0	10
Boutelja	1	9
Elkala	0	10
Eltaref	1	9
Bouhajar	1	9
Pourcentage	<b>10%</b>	<b>90%</b>