

N° d'ordre 3061.

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT D'ETAT**

Structure de Recherche : Biodiversité, écologie et génomes.

Discipline : Biologie

Spécialité : Environnement

Présentée et soutenue le 30 Janvier 2018 par :

Mohammed KHATORI

Impact des polluants chimiques et microbiologiques sur la culture du maïs et la matrice apicole dans la région de Berrechide (Maroc).

JURY :

-Mohammed El FEKHAOU.	PES. Institut Scientifique. Rabat.	Président
-Abdelaziz BENHOUSSE.	PES. Faculté des Sciences de Rabat.	Encadrant
-Ratiba BOUSSEN.	PES. Faculté des Sciences de Rabat.	Examineur
-Mohammed El AZZOUZI.	PES. Faculté des Sciences de Rabat.	Examineur
-Hocein BAZAIRI.	PES. Faculté des Sciences de Rabat.	Examineur
-Mohamed EL YACHIOUI	PES. Faculté des Sciences de Kenitra.	Examineur

Rapporteurs :

-Said HILALI	PES. Faculté des Sciences et Techniques. Settat.
-Mohammed El FEKHAOU.	PES. Institut Scientifique. Rabat

Année Universitaire : 2017/2018.

Avant-propos

Ce travail a été réalisé conjointement par la Faculté des Sciences de l'Université Mohammed V de Rabat, la Faculté des Sciences et Techniques de Settat, les laboratoires de l'U.T.A.R.S du centre National de la Recherche Scientifique et Technique à Rabat et le laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de l'Université Ibn Tofail à Kénitra.

Ce travail de thèse a pu voir le jour grâce au soutien et à la participation de plusieurs personnes que je tiens à remercier :

-Monsieur le Professeur **Abdelaziz BENHOUSA**, directeur de cette thèse, chercheur et chef de laboratoire « Biodiversité des génomes » au département de Biologie de la Faculté des Sciences de Rabat qui m'a accueilli, inscrit au doctorat, suivi mon travail et membre de jury. Mon respectueux hommage ;

-Le professeur **Mohammed EL FEKHAOU**, éminent chercheur et directeur de l'Institut Scientifique à l'Université Mohammed V, Rabat pour avoir accepté de présider le jury et rapporteur interne. Mes sentiments de grand respect et mes remerciements.

-Les membres de jury : **Pr Ratiba BOUSSEN**, **Pr Mohamed EL AZZOUZI**, **Pr Hocein BAZAIRI** et **Pr Mohamed EL YACHIOUI** pour avoir donné de leur précieux temps et d'accepter de juger ce travail. Mes vifs remerciements ;

-Je remercie également les professeurs, **Abdelaziz BOUKLOUSE**, **Abdelkhalid ESSAMADI**, **Yahya KOULALI**, **Boubker NASSER**, **Mohamed QUITOT** et **Abdenbi ZINE EL ABIDINE** pour leur accompagnement durant l'élaboration de ce travail.

-Je remercie **Abdelaziz KHATOURI**, **Loubna TIFAROUINE**, **Mehdi RIOUCH**, **Salma RIOUCH** pour leurs aides et collaboration ;

-Je tiens à remercier l'Université Hassan I, pour avoir subventionné certaines analyses faisant partie de cette étude ;

-Mes remerciements au Centre National de la Recherche Scientifique et Technique et son unité UTARS, pour avoir effectué des analyses et mis à notre disposition l'accès aux ressources bibliographiques électroniques, sans lesquelles un travail de recherche ne serait pas envisageable ;

-Je voudrais remercier ma femme pour son aide et sa tolérance envers moi ;
Enfin, je tiens à remercier également tous ceux qui ont participé, de près ou de loin, à la concrétisation de ce travail.

Résumé :

La Chaouia est la plus vaste plaine céréalière marocaine, connue jadis pour l'exportation de son blé en Europe. Au cœur de cette zone, les sécheresses se succèdent et l'urbanisation avance. Ces nouvelles données contraignent les agriculteurs à changer les pratiques agricoles. Entre autres et avec l'avarie des pluies d'un côté et la disponibilité des eaux usées périurbaines de l'autre, les gens sont tentés, voir obligés à irriguer à l'eau insalubre.

Le sujet de la thèse traite justement l'effet de la présence de grandes étendues d'eaux usées brutes (industrielles et domestiques) à Berrechide, le transfert direct de leurs polluants chimiques (ETM) aux matrices agricoles sols et maïs et la contamination, à la fois chimique (ETM, pesticides et antibiotiques) et microbiologiques des miels produits dans le voisinage de ces eaux.

Il y a eu d'abord une analyse des ETM dans des échantillons de sols et des plans de maïs irrigués à l'eau brute de la ville de Berrechide. Ensuite des analyses d'ETM, pesticides, antibiotiques et la bactériologie de quelques échantillons de miels des voisinages de ces eaux. Les résultats sont intéressants et montrent que toutes les matrices analysées sont bien porteuses de contaminants notamment émergents qui ont pour origine les eaux usées. Particulièrement le miel se trouve affecté tant par un apport de métaux lourds, pesticides et antibiotiques que par une contamination aux bactéries coliformes, probablement en relation avec ce type d'eau.

Mots clés: Eaux usées, agriculture, métaux, pesticides, antibiotiques, coliformes, maïs, miel.

Summary :

Chaouia is the largest cereal plain in northwestern Morocco. This region, often called the granary of Morocco, was once famed for the export of its wheat to Europe the breeding of the well-known "Sardi" ovine race.

In the heart of this area, since the nineteen eighties, years of drought have succeeded one another and urbanization is advancing. Farmers are faced with new environmental, economic and sociological constraints, forcing them to change their farming practices. Among other things, given the scarcity of rain on one hand and the availability of peri-urban sewage water on the other, some farmers are tempted, or even forced, to irrigate with raw sewage water.

The subject of the thesis deals specifically with the effect of the raw sewage areas (industrial and domestic) in Berrechide, their chemical impact on agricultural soil and corn matrices which they irrigate (ETM transfer), as well as chemical (ETM, pesticides and antibiotics) and microbiological contamination of honey produced in their vicinity.

First, an analysis of ETMs in soil samples and maize plants irrigated with sewage water was conducted. Then ETM, pesticide, antibiotic and bacteriological analyses of honey samples around these waters were done.

The results are interesting and show that all the matrices analyzed do carry contaminants, particularly emerging contaminants, likely caused by wastewater. Honey is particularly affected by heavy metals (ETM), pesticides and antibiotics as well as by contamination with coliform bacteria related to this type of water.

Key words: Sewage, agriculture, metals, antibiotiques, pesticides, coliforms, corn, honey.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Partie I : Effet des eaux usées sur le sol et la plante maïs.	5
A/ Impact des eaux usées sur les matrices sol et maïs :.....	6
Chapitre I. Etude bibliographique : L'eau usée, les ETM et l'agriculture :.....	6
I-la pollution chimique des eaux :.....	6
1-Problématique :.....	6
2-La pollution par les eaux usées :.....	6
2-1-Contamination par les éléments traces métalliques (ETM).....	7
2-1-1-Définition des ETM :.....	7
2-1-2-Caractéristiques des principaux ETM :	8
2-1-2-1-Le Zinc (Zn) :.....	8
2-1-2-2-Le Manganèse (Mn) :.....	9
2-1-2-3-Le Fer (Fe) :.....	10
2-1-2-4-Le Cadmium (Cd) :.....	11
2-1-2-5-Le Chrome (Cr) :.....	11
2-1-2-6-Le Cuivre (Cu) :	11
2-1-2-7-Le Nickel (Ni) :	12
2-1-2-8-Le Plomb (Pb) :.....	12
2-1-2-9-Le Mercure (Hg) :	13
3-ETM dans les eaux naturelles :.....	14
4-ETM dans les eaux usées :.....	14
5-Les polluants émergents dans les eaux :	14
II-La contamination microbiologique des eaux :	15
1-Les bactéries dans les eaux :	15
2-Les eaux usées et la dissémination des pathogènes :.....	16
3-Les microorganismes dans les eaux des mers :	17
4-Les bactéries des eaux de puits :.....	18
5-Les maladies hydriques :.....	19
6-Mode d'action des microorganismes sur la santé humaine :.....	20

6-1-La flore en question :	20
6-2-Les risques d'infection :	20
7-Méthodes de lutte contre les pathogènes :	21
8-Résistances des pathogènes :	22
Chapitre II- Les sols, les êtres vivants et les ETM.....	22
I-Le sol :	22
1-Définition d'un sol :	22
1-1-Les sols argileux :	22
1-2-La pollution minérale des sols :	23
1-2-1-Le sol et les apports exogènes en ETM :	23
1-2-2-ETM dans les sols :	24
1-2-3-Caractéristiques et mobilité des ETM :	25
1-2-4-Contamination des sols via l'irrigation par les eaux usées :	25
II-Les ETM et les êtres vivants :	26
1-Cas des microorganismes :	26
2-Cas des végétaux supérieurs :	27
3-Cas chez les animaux :	28
4-Effets des ETM sur la santé humaine :	29
5-Les procédés de décontamination des eaux et des sols :	30
5-1-Les STEP biologiques :	30
5-2-Les procédés de remédiations biologiques des sols :	31
III-Les ETM dans cultures :	32
1-Chez les cultures en général :	32
2-Chez le maïs :	32
Chapitre III- Les polluants transférés aux matrices agricoles :	33
I-Les pesticides :	33
1-Définition d'un pesticide :	33
2-Contexte historique :	33
3-Nature des pesticides :	34
4-Mode d'action des pesticides :	34
5-Les grands groupes de pesticides :	35
6-Les pesticides dans les écosystèmes :	36
6-1-Dans l'air :	36

6-2-Dans les sols :	36
6-3-Dans les eaux :	37
6-4-Dans le milieu aquatique pollué :.....	37
7-Les effets des pesticides sur la santé :	38
8-Méthodes de propagation :	39
9-Normalisation et commerce :	39
II-Les médicaments et antibiotiques en particulier :	40
1-Définition d'un antibiotique :	40
2-Pollution des eaux par les antibiotiques :	41
3-Les antibiotiques : un problème pour la dépollution des eaux :.....	42
4- Procédés de traitements des antibiotiques dans les eaux usées :	42
5-Les médicaments dans les eaux souterraines :	43
Chapitre IV- Situation géographique de la région d'étude :	44
I-Localisation :.....	44
II-Le problème environnemental :.....	44
III-L'agriculture de la Chaouia :.....	45
IV-La ville de Berrechide :	46
V- Le contenu des eaux de Berrechide en métaux lourds :	47
B/ Matériel et méthodes :	49
Chapitre I. Recherche des ETM dans les sols, le maïs et le miel.....	49
I- Le choix des stations :	49
II- Les méthodes d'échantillonnages :.....	50
1-Echantillonnage des sols irrigués par les eaux usées :.....	50
2-L'échantillonnage de la plante maïs :	50
III-Préparation préanalytiques :.....	50
1-Préparation des sols :.....	50
2- Préparation du maïs :	51
IV-Technique d'analyse des sols :.....	51
C/ Résultats et discussions	53
I-Résultats des analyses des sols et du maïs :	53
1-Les ETM dans les sols :	53

2-Les ETM dans la « matrice » maïs :.....	55
3-Interprétation des résultats :	58
3-1-Cas des sols :	58
3-1-1-Contenu en ETM :	58
3-2-Réglementations et normes (Françaises) :.....	59
3-2-1-Normes Françaises fixes pour les sols :.....	59
3-2-2-Normes d'intervention :	59
3-2-3-Normes d'assainissement :	59
3-3-Calcul de l'Indice de Pollution (IP) des sols :	59
II- Résultats des analyses du maïs :	60
1-ETM dans le maïs :	60
2-Les recommandations de la FAO/OMS pour la qualité et les souillures du maïs :.....	60
2-1-Champ d'application :	60
2-2-Définition du produit/ Facteurs de qualité – critères généraux :.....	61
2-3-Conclusion :.....	61
3-Analyse Factorielle des données relatives aux sols :	61
4-Conclusion :	72
Partie II : L'abeille, les eaux usées et la pollution des matrices apicoles.....	73
Chapitre I- Etude bibliographique :	74
I- Biologie de l'abeille :	74
1- L'abeille et la vie sociale de castes :	74
2-Evolution et position systématique :	74
3-L'abeille et la pollinisation des plantes :.....	76
4-L'abeille et les températures ambiantes :.....	77
5-Le rapport de l'abeille avec l'eau :.....	77
5-1-Le besoin en eau d'une colonie :	77
5-2-Comportement de l'abeille vis-à-vis des eaux :.....	78
6-L'abeille et la biodiversité :	79
II-Effets des polluants sur la pérennité des abeilles :	79
1-Effets des ETM sur l'abeille :	80
2-Menace des pesticides sur l'abeille :.....	80
3-L'effondrement des colonies d'abeilles :.....	81
III- Les principales matrices apicoles :	81

1-Le produit miel :	81
2-Le miellat :	82
3-Le pollen :	83
4-La propolis :	85
5-La gelée royale :	85
6-Les essaims :	86
7-Le venin d'abeille :	87
IV-Autres intérêts de l'abeille :	88
1-L'abeille source de produits soignants :	88
1-1-Les téguments de l'abeille : un antibiotique.	88
2-L'abeille et la production du miel :	88
2-1-L'apiculture :	88
2-2-Des techniques apicoles impropres :	90
3-Les matrices apicoles et la pollution :	91
3-1-Les matrices apicoles supports d'analyses des pollutions :	92
3-2-Les analyses courantes (standards) des propriétés d'un miel :	93
3-2-1-La teneur en eau et la matière sèche :	93
3-2-2-Le degré de Brix :	94
3-2-3-Le pH :	94
3-2-4-L'acidité :	94
3-2-5-Les cendres :	95
3-2-6- La teneur en sucre :	96
3-2-7-La conductibilité électrique :	97
3-2-8-La densité :	97
3-2-9- La couleur :	97
4-Les propriétés biologiques d'un miel :	98
4-1-Les bienfaits nutritionnels :	98
4-2-Les valeurs thérapeutiques du miel :	99
4-2-1-Les propriétés médicinales :	99
4-2-2-Propriétés antibactériennes du miel :	99
4-3-Propriétés laxatives du miel :	100
5-Autres propriétés :	100
5-1-La Cristallisation des miels :	100

5-2-Toxicité rare de certains miels :	100
V-Les principaux polluants dans le miel :	101
1-Les ETM dans le miel :	101
2-Les pesticides dans le miel :	102
2-1-Les différentes voies de pénétration des pesticides dans une ruche :	102
2-2-Mode d'extraction des pesticides à partir du miel :	103
3-Les antibiotiques dans le miel :	104
3-1-D'origine externes à la ruche :	104
3-2-Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le miel :	104
3-2-1-Méthode qualitative par des tests microbiologiques :	105
3-2-2-Méthode quantitative :	106
3-2-3-Limites maximales des résidus, LMRs dans le monde :	107
4-Le miel et les microorganismes :	107
4-1-Le miel, un antibactérien :	107
4-2-La contamination microbienne du miel (bactéries et protozoaires) :	108
4-2-1-Par les bactéries :	108
4-2-2-Par les protozoaires :	109
4-2-3-Par les champignons et levures :	109
4-2-4- Par les virus :	110
Chapitre II-Matériel et méthodes :	110
1-Les ETM dans le miel :	110
1-1-Echantillonnages des miels (lot 1 et 2) :	110
1-2-Préparation pré-analytique et protocole d'analyse du lot1 de miels pour une analyse ICP :	112
1-3-Analyse par absorption atomique des ETM dans le lot2 de miels :	112
1-3-1- Préparation et protocole d'analyse	112
1-3-2-Mesure par absorption atomique :	112
2-Analyses des pesticides et des antibiotiques dans les échantillons de miels :	113
2-1-Notion d'analyse multirésidus :	113
2-2-Protocole d'analyses :	114
VI- Analyses microbiologiques de la « matrice » miel :	115
1-Protocole d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires (ici le miel) :	115

2-Les méthodes de détection des micro-organismes indicateurs et pathogènes :	115
2-1-Les méthodes d'énumération :	115
2-2-La méthode enzymatique :	115
2-3-Les méthodes moléculaires :	115
2-3-1- Le dénombrement de la flore mésophile totale aérobie (FMAT) :	116
2-3-2-Le dénombrement des coliformes totaux :	116
2-3-3-Le dénombrement des coliformes fécaux :	117
2-3-4-Le dénombrement de Staphylococcus aureus :	117
2-3-5 -La recherche des salmonelles :	117
2-3-5-1- Pré-enrichissement :	117
2-3-5-2- Enrichissement :	117
2-3-5-3- Isolement :	118
2-3-5-4- Identification biochimique :	118
2-3-5-5- Identification antigénique :	118
2-3-6-Le dénombrement du Pseudomonas aeruginosa :	118
2-3-7-Le dénombrement des anaérobies sulfuto-réducteurs (A.S.R) :	118
2-3-8-Le dénombrement des levures et des moisissures :	119
Chapitre III. Résultats des analyses des miels :	119
I-Résultats des analyses physico-chimiques des normes (nos miels):	119
II-Interprétation de ces analyses :	119
1-Le degré de Brix :	120
2-Le pH :	120
3-La conductibilité électrique :	120
4-La densité :	121
5-L'acidité :	121
6-Les cendres :	121
7-La teneur en sucre :	121
8-La couleur :	122
III-Les résultats d'analyses des ETM dans le lot 1 de miels :	122
1-Interprétations et recommandations :	123

2- Comparaison avec d'autres résultats :	128
2-1-Pour les valeurs du Pb :	128
2-2-Exemple de concentrations d'analyses en Turquie :	128
2-3- Normes et recommandations :	129
IV-Résultats et interprétations des analyses multi-résidus des pesticides et des antibiotiques dans les échantillons de miels :	129
1-Les pesticides et d'antibiotiques dans les miels :	129
2-Interprétation de ces valeurs :	130
3- Interprétation des valeurs antibiotiques :	132
V-La microbiologie des échantillons de miels :	133
1- Résultats des analyses bactériologiques des miels :	133
1-1-Interprétation des résultats :	134
1-1-1-Bactéries Mésophiles Aérobiees totales (FMAT) :	134
1-1-1-1-Enterobacteriaceae :	134
1-1-1-2-Coliformes totaux :	135
1-1-1-3-Streptocoques :	135
1-1-1-4-Staphylocoques :	135
1-1-1-5-Salmonella :	135
1-1-1-6-Clostridium :	136
1-1-2-Sulfite-réducteurs :	137
1-2-Normes d'hygiène :	137
Conclusion générale :	139
Références :	143

Liste des tableaux

Tableau N° 1. Quelques aliments riches en zinc :.....	9
Tableau N° 2. Prévalence des micro-organismes dans les eaux de puits.	19
Tableau N° 3. Mode d'action des phytosanitaires selon leur façon d'agir.	35
Tableau N° 4. Concentrations des ETM dans la matrice sol et maïs témoins (mg/Kg).....	53
Tableau N° 5. Eléments traces dans les sols de surface (mg /kg).	53
Tableau N° 6. Eléments traces dans le sol 20 cm de profondeur (mg /kg).	54
Tableau N° 7. Concentration des éléments traces dans les feuilles de maïs (mg /kg).	55
Tableau N° 8. Concentrations des éléments traces dans les épis de maïs (mg/kg).....	56
Tableau N° 9. Concentration des éléments traces dans les racines de maïs (mg/kg).....	57
Tableau N° 10. Matrice des composantes (sol de surface).	62
Tableau N° 11. Matrice de corrélation (sols de surface).....	62
Tableau N° 12. Ecart à la moyenne rapporté à l'écart-type	68
Tableau N° 13. Matrice des éléments ETM relative aux maïs (racine, feuille et épi).	71
Tableau N°14. Table de CHATAWAY (1935, d'après Guerzou et Nadji. 2002).	93
Tableau N° 15. Les valeurs de l'acidité de quelques miels (MOKEDDEM. 1998).	95
Tableau N° 16. Les résultats des analyses physicochimiques (d'authenticité) de nos miels.	119
Tableau N° 17. Résultats des analyses ETM à l'ICP des échantillons lot 1 de miels.....	123
Tableau N° 18. Concentrations moyennes en fer (Fe), zinc (Zn), cuivre (Cu), plomb (Pb), mercure(Hg) et cadmium (Cd) déterminées dans les échantillons de miel du lot 2.....	123
Tableau N° 19. Comparaison des concentrations en plomb avec celles d'autres pays.....	128
Tableau N° 20. Valeurs de certains métaux lourds dans 5 échantillons de miel de Turquie .	129
Tableau N° 21. Les valeurs d'analyses en pesticides et antibiotiques dans les miels lot 2....	130
Tableau N° 22. Pourcentage et taux moyen des éléments polluants dans les miels lot 2.	132
Tableau N° 23. Fréquence de la flore bactériologique identifiée dans 20 miels.....	133
Tableau N° 24. Résultat d'analyse microbiologique des miels du lot 1 (en ufc/g).....	134

Liste des figures

Fig N°1. Variation des coliformes en fonction des précipitations	17
Fig N° 2. Devenir des ETM et pesticides dans le sol. (D'après CAMUZARD. 2000).	26
Fig N° 3. Carte du Maroc et situation de la zone d'étude.....	46
Fig N° 4. Image satellite de la zone de prélèvement des échantillons des sols et maïs.	49
Fig N° 5. Répartition des ETM selon les composantes 1 et 2 relative aux sols de surface.	63
Fig N° 6. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2 (Données des éléments métalliques des sols de surface).....	65
Fig N° 7. Repartition, selon composantes 1 et 2, des éléments traces métalliques dans le sol à 20 cm de profondeur.....	66
Fig N° 8. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM à 20 cm de profondeur.	67
Fig N° 9. Représentation des éléments traces sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM dans les racines, feuille et épi du maïs.	69
Fig N° 10. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM dans racines du maïs (trouvée identique pour les 3 organes de la plante).....	70
Fig N° 11. Représentation des éléments traces à partir de la matrice de leurs confrontations (identique pour les trois organes de la plante).....	71
Fig N° 12. Image satellite de la zone de prélèvement des échantillons de miels.	111

Liste des abréviations.

ASR = anaérobies-sulfito-réducteurs.

CEE = communauté Economique Européenne.

ETM = Eléments traces métalliques (métaux lourds).

EMI = Ecole Mohammedia des Ingénieurs (Maroc).

FMAT = Flore mésophile anaérobie totale.

G.T.P.S.C = Groupe de Travail des Professionnels de la Santé. Canada.

HCP = Haut-Commissariat aux plans (Maroc).

ICP = Spectrométrie de masses à Plasma Induit.

IRD = Institut Recherche et Développement.

IRRI = Institut International de Recherche sur le Riz.

INRA = Institut National de la Recherche Agronomique.

IP = Indice de Pollution.

LMRs = Limite Minimale du Résidu.

LC50 = Concentration létale qui tue 50 % des individus.

MO = matière organique.

NPK = Engrais NPK (N=l'azote, P= phosphore K= potassium K).

OMS = Organisation Mondiale de la Santé.

ONEP = Office National de l'Eau Potable.

REUT = Réutilisation des Eaux Usées Traitées.

STEP = Station de Traitement des Eaux Polluées.

Introduction générale

Beaucoup de régions marocaines deviennent de plus en plus peuplées, particulièrement au nord d'Agadir et entre Kenitra et Casablanca. Les constructions incessantes risquent de lier toutes les agglomérations de la côte. Quand on sait que les eaux usées de ces villes sont rejetées brutes au niveau du rivage et ayant des conséquences fâcheuses sur l'écosystème côtier. L'exemple d'impact négatif, le plus historiquement connu, est la disparition de la sardine au large de la région de Safi, qui fut un grand pourvoyeur du marché de poisson au Maroc, avant l'implantation des industries de transformation des phosphates. A cela s'ajoute les pollutions émanant des décharges anarchiques, les lixiviats qu'elles secrètent et les fumées qu'elles dégagent. En même temps, le réseau routier dans ces régions est le plus dense du pays et contribue largement à la pollution. Une telle pollution menace sérieusement la biodiversité, la vie marine et la santé publique, tout le long de ces côtes et au large. Il y a aussi de sérieuses conséquences pour un pays à vocation touristique comme le nôtre, où les eaux de baignades ne sont pas souvent aux normes de la bonne qualité d'hygiène et présentent une atteinte à la santé des baigneurs et nuisent à la réputation touristique du pays.

Le Maroc a fait de grands efforts en ce qui concerne l'environnement certes, essentiellement en matière d'épuration des eaux usées, mais il reste encore beaucoup à faire. Parmi les nombreux polluants, les métaux lourds, les pesticides et les antibiotiques qui présentent un défi pour la santé humaine et une menace pour la biodiversité. En effet, ils sont de plus en plus envahissants et difficiles à extraire des milieux naturels. Ainsi, tous les écosystèmes en sont affectés et deviennent ubiquistes. Leur rémanence et leurs concentrations élevées constitueront un sérieux problème pour les générations futures. Dans certaines zones, les eaux urbaines brutes sont toujours acheminées pour l'irrigation de cultures.

La zone de Berrechide est particulièrement exposée à des dangers sanitaires et environnementaux à cause d'un cumul de contraintes de pollutions non prises en comptes en temps réel. Il fut un temps en attendant la réalisation et la mise en marche d'une nouvelle STEP de la ville, ce qui a pris des années, les eaux usées Berrechide ont été refoulées par pompage le long de la rive droite de la route allant vers Droua. Ceci a ouvert la porte à une nouvelle opportunité d'agriculture irriguée à l'eau insalubre brute. Alors nous nous sommes intéressés à cet aspect nouveau, surtout que cette nouvelle culture était du maïs destiné à différents usages alimentaires humains et animaux ainsi que les produits commercialisés qui en découlent (lait, beurre, viande,...). Plusieurs parcelles étaient visibles le long de la rive droite seulement elles étaient prises comme stations à prospecter.

De la même façon des plages importantes d'eau de natures différentes, parfois colorées, sont visibles dans la partie sud-ouest de la ville, de part et d'autre de la voie ferrée, où sont stockés les rejets liquides de certaines sociétés. Ceci quand ces eaux ne sont pas injectées dans des fosses septiques.

Des domaines agricoles sont limitrophes de ces bassins et leurs cultures sont irriguées par pompage de la nappe parfois à peine à quelques dizaines de mètres de ces réservoirs de stockage. Des ruches standards sont parfois entreposées au niveau des lisières faisant limites entre parcelles. Les abeilles qui y logent sont à portée des eaux insalubres.

L'idée nous est venue de savoir comment ces récoltes agricoles et d'autres cueillettes se portaient vis-à-vis de solutés contenues dans ces eaux usées.

La thèse a été subdivisée d'abord en deux grands volets dont le premier traite l'effet des eaux d'égouts sur les sols et le maïs qui en sont irrigués. La seconde partie se consacre aux miels produits dans ce voisinage pollué et les substances anormalement présentes dans cette matrice. Chacune de ces deux parties du manuscrit, comme il est de coutume, comporte trois grandes subdivisions : Bibliographie, matériel et méthodes et résultats et interprétations.

Pour répondre aux objectifs fixés, nous avons adopté trois approches expérimentales :

- L'analyse de la composition en métaux lourds issus des eaux usées, dans les matrices sol, le maïs et le miel ;

- L'analyse de la composition en résidus des pesticides et antibiotiques dans le miel, supposés émanant des eaux usées ;

- L'analyse de la composition microbiologique du miel.

Chaque approche comprend une partie matériel et méthodes dans laquelle nous décrivons la méthodologie adoptée pour atteindre ses objectifs, depuis l'échantillonnage jusqu'au traitement statistique des résultats obtenus. L'ensemble est documenté et argumentée avec plus de 300 références, dont une grande partie date des six dernières années.

L'analyse complète des travaux de nos recherches, a montré que :

- Les métaux lourds sont présents en quantités non négligeables, dans le sol et le maïs en culture. Des comportements spécifiques de ces éléments métalliques sont observés selon la nature de la matrice et au sein des compartiments qui constituent une même matrice (sol ou maïs) ;

-Des teneurs en métaux lourds sont plus variables selon le profil du sol et sont en général plus élevées en surface qu'en profondeur pour le sol, et dans la partie racinaire que la partie aérienne pour la plante ;

-Un volet atypique non conventionnel est que miels analysés se caractérisent par la présence d'une flore microbienne de contamination dont la nature des bactéries présentes (coliformes fécaux, entérobactéries, etc...) laisse supposer une contamination par les eaux usées domestiques ;

-Les miels analysés présentent des caractéristiques physicochimiques (d'authenticité) normales, comparées aux références internationales ;

-Les miels analysés présentent des concentrations importantes en antibiotiques et pesticides. Ils se caractérisent aussi par des teneurs anormalement élevées en métaux lourds et particulièrement el plomb.

Le travail est donc plus que satisfaisant puisqu'il décrit quelque chose de nouveau en matière de souillure des denrées et mis en garde les parties concernées de ses conséquences sur la santé.

Partie I :
Effet des eaux usées sur le sol et
la plante maïs.

A/ Impact des eaux usées sur les matrices sol et maïs :

Chapitre I. Etude bibliographique : L'eau usée, les ETM et l'agriculture :

I-la pollution chimique des eaux :

1-Problématique :

Le siècle dernier a été marqué par les progrès de la médecine, l'industrialisation, et une croissance démographique jamais atteinte auparavant. L'urbanisation s'est étendue, générant des quantités énormes d'eaux usées.

Avant l'acquisition des techniques d'épuration, ces eaux ont été utilisées dans l'irrigation des cultures, notamment dans des pays technologiquement avancés comme l'Australie.

2-La pollution par les eaux usées :

Au Maroc, problème des eaux usées et des décharges de déchets solides, prend une ampleur considérable. Peu de villes marocaines disposent d'une station d'épuration des eaux digne de ce nom et d'une décharge contrôlée avec des normes adéquates. Les STEP existantes tombent souvent en panne et peuvent rester dans cet état pendant des années, souvent pour des raisons de négligence, plutôt qu'à un défaut de financement. Les plans directeurs ont vu le jour à peine il y a quelques décennies et les financements se font rares bien que le savoir en la matière est de haut niveau (Écoles d'ingénieurs, ONEP, coopération internationale...). Il a fallu que l'ampleur atteigne un paroxysme pour se rendre compte de l'obligation d'agir.

De sérieuses pollutions des oueds et des nappes phréatiques subsistent à nos jours, causées par les eaux résiduaires urbaines, mais aussi occasionnellement, par des unités de transformation de produits agricoles, qui sont souvent éparpillées et installées sans études d'impact au préalable. Ainsi, le long des quatre chaînes de montagnes et surtout au Nord du pays, nous avons vu fleurir des petites villes, le plus souvent d'une urbanisation anarchique (Ribat-kheir, Khenifra, Tahala...) et qui injectent leurs eaux grises soit directement dans les rivières (Khenifra, Midelt...), soit dans un système de fosses anarchiques. Dans bien des cas, au Moyen Atlas, sur une morphologie karstique (Ribat-kheir à titre d'exemple), la pollution affecte tout le réseau hydrographique superficiel et profond dès ses résurgences. Parfois en aval, les populations riveraines de ces cours d'eaux et leurs cheptels d'animaux consomment

ces eaux tout en étant au courant de cet état d'insalubrité (rivière de Sebou en aval de Fès jusqu'à son rejet à l'océan à Kénitra à titre d'exemple). Le long de ces réseaux plus ou moins pollués et au niveau de certaines agglomérations, le traitement de cette eau pour la rendre potable demande des infrastructures coûteuses (cas de Kariat-Ba-Mohamed).

Les ressources hydriques, jadis considérées renouvelables et inépuisables, sont devenues limitées. Cette situation a imposé un mode de réflexion nouveau et la recherche d'alternatives, à l'instar des pays arides. L'épuration et la réutilisation des eaux usées en est la solution la plus admise puisqu'elle recycle des quantités d'eaux déjà disponibles au moindre coût. En outre et quel que soit le choix, il y a lieu d'adopter des techniques d'irrigation efficaces et respectueuses de l'économie de l'eau ainsi que la mise à niveau de la législation qui doit faire face au gaspillage et à la détérioration des ressources hydriques, faute de quoi, les choses resteront inchangées.

2-1-Contamination par les éléments traces métalliques (ETM)

2-1-1-Définition des ETM :

La notion de « métal lourd » est un concept factuel, industriel, avant tout empirique, sans définition scientifique précise, ni technique unanimement reconnue.

Les éléments traces, appelés abusivement « métaux lourds », comprennent non seulement les métaux présents à l'état de trace (cadmium, cuivre, mercure, plomb, etc...), mais aussi des éléments non-métalliques, comme l'arsenic, le fluor... La plupart d'entre eux, les oligo-éléments, sont nécessaires à la vie en faible dose. Ils peuvent cependant se révéler très nocifs en quantités trop importantes. C'est le cas du fer (Fe), du cuivre (Cu), du zinc (Zn), du nickel (Ni), du cobalt (Co), du vanadium (V), du sélénium (Se), du molybdène (Mo), du manganèse (Mn), du chrome (Cr), de l'arsenic (As) et du titane (Ti). D'autres ne sont pas nécessaires à la vie et sont préjudiciables dans tous les cas, comme le plomb (Pb), le cadmium (Cd) et l'antimoine (Sb). Les métaux lourds s'accumulent dans les organismes vivants et ont des effets toxiques à court et long terme. Certains, comme le cadmium, le chrome et le plomb, sont cancérogènes.

La définition européenne :

L'Europe a tranché en proposant (en 2000) une définition d'un métal lourd (valable pour le droit européen et celui des états-membres, notamment dans le domaine des déchets). Selon cette définition un « Métal lourd » désigne « tout composé d'antimoine, d'arsenic, de cadmium, de chrome hexavalent, de cuivre, de plomb, de mercure, de nickel, de sélénium, de

tellure, de thallium et d'étain, ainsi que ces matériaux sous forme métallique, pour autant qu'ils soient classés comme substances dangereuses ». De manière plus générale, une « substance dangereuse » est « une substance qui a été ou sera classée comme dangereuse par la directive 67/548/CEE ou par ses modifications ultérieures » (C.E.E. 2000).

Les ETM sont des minéraux qui existent naturellement dans toutes les roches et ultérieurement dans les sols qui en sont formés. Seulement il y a des différences importantes de concentrations de ces éléments d'un substrat à un autre déterminé par le « fond géochimique » de la roche initiale.

2-1-2-Caractéristiques des principaux ETM :

2-1-2-1-Le Zinc (Zn) :

Le zinc est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. Il est présent dans toutes les cellules végétales et animales. Le zinc est avant tout un ion intracellulaire. Plus de 95 % du zinc corporel se trouve dans les cellules, dont 60 % à 80 % dans le cytosol. Il est nécessaire à la synthèse de l'ADN et à la formation de nouveaux tissus, d'où son rôle essentiel dans la croissance et le développement des enfants. C'est un composant important de plus de 100 systèmes enzymatiques responsables de la digestion et du métabolisme des graisses, des protéines et des glucides. Intimement lié à la production énergétique, il intervient aussi dans l'immunité. Il est nécessaire au développement des lymphocytes T, les globules blancs qui s'attaquent aux virus et aux bactéries et aident le corps à combattre les infections. C'est un antioxydant et il interviendrait dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres. Dans l'acné inflammatoire modérée, le zinc a même démontré une efficacité équivalente à la tétracycline, l'antibiotique de référence dans le traitement de l'acné (<http://www.doctissimo.fr/>). Il peut induire l'apoptose des cellules infectées par le virus de la grippe, facilitant leur phagocytose et empêchant ainsi la propagation de l'infection. Sa carence peut entraîner un retard de croissance, des anomalies de la maturation sexuelle, des troubles du goût, des problèmes immunitaires, des problèmes de peau et de cicatrisation. Il est aussi un oligo-élément essentiel impliqué dans la synthèse, le stockage et la libération de l'insuline (CHIMIENTI. 2013). Le zinc est aussi un composant structurel des enzymes antioxydantes clés telles que le superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase (ZHENG et al. 2008). Ceci suggère que les niveaux anormaux de zinc peuvent induire des altérations du métabolisme de l'insuline et le stress oxydatif qui pourrait

finalement conduire à une augmentation de la susceptibilité au diabète sucré et le syndrome métabolique.

Le zinc est présent dans plusieurs aliments : régime alimentaire varié est plus susceptible de fournir des apports nécessaires en zinc qui sont de l'ordre de 7 mg par jour pour les femmes et de 9 mg par jour pour les hommes. La viande rouge est l'une des meilleures sources de zinc. Des apports accidentels de plus de 200 mg de zinc sont fortement toxiques et peuvent causer des vomissements et des malaises. Un supplément prolongé peut pour sa part nuire à l'absorption du cuivre et du fer car ils empruntent les mêmes voies pour franchir la barrière intestinale et gagner la circulation sanguine. Des apports excessifs d'un sel minéral donné peuvent donc nuire à l'absorption des autres (<http://www.eufic.org/>, <http://www.doctissimo.fr/>).

Tableau N° 1. Quelques aliments riches en zinc :

Aliment	Zinc (mg/100 g)
Huîtres fraîches	45 – 75
Palourdes	21
Germe de blé, son de blé	13-16
Noix du Brésil	7
Viandes, muscle	4.5 – 8.5

2-1-2-2-Le Manganèse (Mn) :

Le fer (Fe) et le manganèse (Mn) sont des éléments métalliques présents dans de nombreux types de roche. Ils sont souvent présents à l'état naturel ensemble. Ces deux éléments sont également fréquents dans l'eau et sont indispensables, en petites quantités, à tous les organismes vivants. La chimie du Mn est étroitement liée à celle du Fe et du Co et ayant une origine rocheuse essentiellement ferromagnésienne. Ils ne posent en général pas de risques pour la santé aux concentrations normalement présentes dans l'eau potable. Seulement ils peuvent changer le goût, l'odeur et la couleur de cette eau par un dépôt sur les canalisations d'adduction. Le transport et la partition du manganèse dans l'eau sont contrôlés par sa spéciation, déterminée essentiellement par le pH et le potentiel redox : Pour les eaux de surface aux pH proches de 7, l'ion Mn^{2+} est l'espèce dissoute dominante, tandis que les complexes inorganiques les plus importants sont $Mn(HCO_3)^+$ et $Mn(SO_4)$ (CHISWELL et MOKHTAR. 1986). Sa concentration dans les végétaux aquatiques est de l'ordre de 50 $\mu g \cdot g^{-1}$ de poids sec, avec des facteurs de transfert racinaire de l'ordre de 0,3 ($kg \cdot sec \cdot kg^{-1}$ du poids

sec), alors que le manganèse dans les organismes aquatiques (crustacés, mollusques, poissons) est de l'ordre de 10 µg.g⁻¹ de poids frais. La rhizosphère, l'activité microbienne et la production d'exsudats racinaires interviennent notamment dans la mobilité du manganèse, également dans les processus d'oxydation (ATSDR. 200, WHO. 2005, IRSN. 2005). Dans les sédiments de fond, la concentration moyenne du manganèse est estimée à 300 µg.g⁻¹ du poids sec, et peut atteindre jusqu'à 6700 µg.g⁻¹ (WHO. 2005), alors que les concentrations en manganèse dans les sols varient de 270 à 2000 ppm en sols sableux pour atteindre de 525 à 9200 ppm dans les sols argilo-limoneux (KABATA-PENDIAS et SADURSKI. 2004).

2-1-2-3-Le Fer (Fe) :

Le fer est un élément chimique de symbole Fe et de numéro atomique 26. Il fait partie du groupe des éléments à l'origine des métaux de transition. Le fer minéral est présent dans la nature sous forme pure ou d'alliages à base de nickel. Le fer est l'un des sels minéraux essentiels au bon fonctionnement de l'organisme. Il a un rôle fondamental dans la constitution de l'hémoglobine contenue dans les globules rouges du sang, de la myoglobine contenue dans les muscles et dans celle de nombreux enzymes indispensables au fonctionnement de l'organisme (<http://www.doctissimo.fr>). Son déficit est à l'origine de poids insuffisant ou très bas à la naissance, voire la naissance prématurée (Health Indicators WAREHOUSE. 2012, RONNENBERG et al. 2004, STEER et al. 1995, PARK et al. 2014). La carence de fer chez le nourrisson et l'enfant est qualifiée être la cause du retard mental et le déficit de la mémoire (LOZOFF et al. 2000, IDJRADINATA et POLLITT. 1993, HURTADO. 1999, PARK et al. 2014) La carence en fer est apparue comme une comorbidité commune avec un impact négatif à la fois sur le pronostic et la capacité fonctionnelle (JANKOWSKA et al. 2010 et 2011, KLIP. 2013, ENJUANES. 2014). Il existe des preuves que la correction de la carence en fer par voie intraveineuse peut améliorer les symptômes, la capacité fonctionnelle et la qualité de vie liée à la santé chez les patients, indépendamment de la présence ou de l'absence d'anémie (ANKER et al 2009, COMIN-COLET et al. 2013, ENJUANES et al. 2014). Ces résultats suggèrent que la carence en fer peut être un facteur déterminant, modifiable et une clé de limitation fonctionnelle de l'altération de la qualité de vie. Le rôle crucial que joue le fer dans le métabolisme énergétique dont les muscles (notamment cardiaques) et squelettiques pourrait apporter un soutien à la logique de l'hypothèse reliant le fer avec la qualité de la vie et les symptômes de l'insuffisance cardiaque chronique (ENJUANES et al. 2014).

L'excès de fer est sensé accélérer l'initiation et la progression tumorale en favorisant la formation de radicaux libres et en fonctionnant comme un nutriment nécessaire qui favorise la prolifération des cellules tumorales (YU et al. 2007b, TORTI. 2013, WENLI. 2015).

2-1-2-4-Le Cadmium (Cd) :

On peut trouver le Cd principalement dans la croute terrestre où il est souvent en combinaison avec le Zn, le Pb ou le Cu. Il n'a pas de rôle physiologique dans le corps. C'est un élément indésirable, toxique et ses composés le sont aussi sous forme quelconque : solide, vapeur, sels, composés organiques et cela même à une faible concentration. Il se substitue au calcium dans le cristal osseux et en modifie les propriétés mécaniques quand on sait que le Ca est un régulateur très précis du taux plasmatique et que le Cd entraîne une fuite du Ca via les selles et cause une perte pour l'organisme même à des expositions très faibles. Sa demi-vie dans l'organisme est de 20 à 40 ans, principalement stocké dans le foie et les reins. L'inhalation de la fumée d'oxyde de Cd est à l'origine de fièvres ou de pneumonie chimique. Si l'intoxication au Cd est chronique, elle provoque principalement une tubulopathie rénale qui peut être à l'origine d'une ostéomalacie ou d'une ostéoporose diffuse. Il est classé comme agent cancérigène certain pour l'Homme par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (ANDUJAR et al. 2010). Certains aliments sont riches en cadmium : le foie, les champignons, les moules, les mollusques, les crustacées, la poudre de cacao et les algues séchées. Chez les équidés (cheval, âne, mulet), il peut y avoir une concentration élevée de Cd de l'ordre de 10 µg/g, alors que la dose journalière tolérable temporaire (« DJT ») est fixée et limitée au maximum de 1 µg·kg⁻¹·j⁻¹. Chez le fœtus humain, la concentration relevée en Cd est de l'ordre d'un microgramme. Elle est plus faible que celle chez la maman car ce minéral ne franchit pas la barrière placentaire (<http://www.doctissimo.fr/html/nutrition>).

2-1-2-5-Le Chrome (Cr) :

Le chrome est un oligo-élément aux propriétés bénéfiques pour notre corps. Des études ont montré que le chrome diminue le cholestérol total et augmente le bon cholestérol et par là, une carence entraîne une athérosclérose (fixation des graisses sur les vaisseaux sanguins), des troubles du métabolisme des glucides et des lipides avec comme principale conséquence une hyperglycémie (<http://www.doctissimo.fr/html/nutrition>).

2-1-2-6-Le Cuivre (Cu) :

Le cuivre est un métal rouge orangé qui possède après l'argent la plus faible résistivité électrique et la plus haute conductivité thermique, ce qui explique son usage préférentiel dans

le domaine d'électricité. Il est malléable, ductile et relativement mou. Les surfaces de cuivre, sous l'influence de l'air humide, se recouvrent d'une couche d'oxyde et de d'hydrocarbonate de couleur verte appelée vulgairement « vert de gris » (Fiche Technique du cuivre <http://protectiondesmetaux.com>). Il est un cofacteur catalytique et structural dans de nombreuses enzymes. Il joue un rôle essentiel et critique dans les processus biologiques. Il est essentiel pour les cellules pour maintenir la concentration homéostatique du cuivre dans le corps. Son déséquilibre dans le corps, à savoir, l'excès ou la carence, conduira à des états pathologiques (BREMNER. 1998, HALFDANARSON et al. 2008, HAZEGHAZAM. 1996, XIN-YING et al. 2016).

Le cuivre, comme un oligo-élément essentiel, peut provoquer des maladies telles que la leucémie infantile à des niveaux excessifs. Toutefois, il a été appliqué dans le traitement de l'anémie pendant une longue période (XIN-YING et al. 2016).

2-1-2-7-Le Nickel (Ni) :

Le Nickel est un élément chimique de symbole Ni et de numéro atomique 28. Le nickel est un composé qui n'est présent dans l'environnement qu'à des concentrations très faibles. L'Homme utilise le nickel pour différentes applications, la plus commune est l'utilisation du nickel comme composants de l'acier ou d'autres produits métalliques. Il est l'un des métaux lourds les plus toxiques pour les organismes. Il s'accumule dans l'épiderme, mésentéron, hémolymph et les ovaires d'insectes (SCHMIDT et IBRAHIM. 1994, ZHANG et al. 2001 et SUN et al. 2008).

2-1-2-8-Le Plomb (Pb) :

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole Pb. C'est un membre du groupe des cristallogènes (une forme cristalline). Il est un métal toxique naturellement présent dans l'écorce terrestre. Dans de nombreuses parties du monde, la généralisation de son usage a entraîné une importante contamination des écosystèmes, une exposition humaine et de problèmes de santé. Il se diffuse dans l'organisme pour atteindre le cerveau, le foie, les reins et les os. Il est stocké dans les dents et les os, où il s'accumule au fil du temps. La mesure de la concentration de plomb dans le sang donne une idée de l'exposition. Il est largement utilisé dans de nombreux autres produits, par exemple : tuyauterie d'adduction d'eau potable (aujourd'hui interdite et échangée), pigments, peintures, soudures, vitraux, vaisselle en cristal, munitions, glaçures céramiques, bijoux, jouets ainsi que dans certains produits cosmétiques et médicaments traditionnels. Les enfants sont

particulièrement vulnérables aux effets toxiques du plomb, qui peuvent avoir des conséquences graves et permanentes sur leur santé, en particulier en affectant le développement du cerveau et du système nerveux. Le plomb a également des effets délétères à long terme sur l'adulte, y compris en augmentant le risque d'hypertension artérielle et de lésions rénales (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/fr/>).

2-1-2-9-Le Mercure (Hg) :

Le mercure est un métal (symbole : Hg), blanc argenté, brillant, très dense et très mobile. Il est présent dans l'écorce terrestre sous forme de dépôt de minerai rouge vermillon, appelé cinabre. On le retrouve dans l'air, l'eau et les sols sous trois formes différentes : élémentaire, inorganique et organique. C'est le seul métal liquide à température ambiante, ce qui lui a valu son symbole (Hg) du mot grec latinisé *hydrargyrum* (argent liquide). Le mercure élémentaire ou mercure métal est volatil aux températures ambiantes habituelles (assez pour être à l'origine d'intoxication). Il rentre dans plusieurs domaines industriels dont la fabrication de piles, de lampes, de redresseurs de courant ou de minuterie. Dans l'industrie chimique, il sert de cathode lors de la production par électrolyse de chlore et de soude caustique, la fabrication d'appareils de mesure de laboratoire et l'industrie des amalgames (BENSEFA-COLAS et al. 2011). Il est libéré dans l'environnement par l'activité volcanique, l'érosion des roches et à la suite des activités humaines. Ces dernières sont la cause principale des rejets de mercure, qui proviennent notamment des centrales électriques au charbon, de l'utilisation domestique de ce minerai pour le chauffage et la cuisine, des processus industriels, des incinérateurs de déchets, de l'extraction minière du mercure, de l'or et d'autres métaux.

L'exposition au mercure, même à de petites quantités, peut causer de graves problèmes de santé et constitue une menace pour le développement de l'enfant in utero et à un âge précoce : Les fœtus sont particulièrement sensibles aux incidences du mercure sur le développement. Il peut avoir des effets toxiques sur les systèmes nerveux, digestif et immunitaire, sur les poumons, les reins, la peau et les yeux. Le mercure est considéré par l'OMS comme l'un des dix produits chimiques ou groupes de produits chimiques extrêmement préoccupants pour la santé publique. Les gens sont exposés au méthyle mercure principalement lorsqu'ils consomment du poisson ou des crustacés contenant ce composé organique (OMS/Mercure et santé : <http://www.who.int/mediacenter/factsheets/fs361/fr/>).

3-ETM dans les eaux naturelles :

La plupart des métaux lourds sont toxiques et solubles dans l'eau (NOOR-UL-AMIN et al. 2013). Heureusement que ces composés sont souvent présents à de très faibles concentrations dans les écosystèmes et les eaux naturelles, sinon les flots ne seraient pas viables. De ce fait, la détermination des concentrations de ces composés dans les eaux naturelles est une tâche difficile et demande des techniques compliquées. Des concentrations en métaux lourds atteignent un niveau élevé en mer qui est l'aboutissement de toutes les impuretés solides ou dissoutes et le milieu de répartition de ces composantes dans les chaînes et les cycles biogéochimiques. Actuellement et vu que les côtes sont très peuplées par endroits, vu le trafic maritime intense et les déversements fréquents de toute sorte de matières, certains endroits du monde sont devenus des milieux sérieusement infectés avec des concentrations élevées en métaux lourds (SELIVANOVSKAYA et LATYPOVA. 2003, SINGH et al. 2004). Dans le milieu marin, des quantités de métaux charriées par les silts peuvent être d'une valeur élevée. Ainsi, dans le golf de Thaïlande, la concentration du chrome par exemple atteint 349,92 mg/Kg, ce qui est énorme pour un élément cancérigène et toxique (SHUQING et al. 2015).

4-ETM dans les eaux usées :

Dans les eaux usées domestiques ou industrielles, les métaux lourds sont la catégorie de polluants la plus importante (BHATNAGAR et al. 2008). Ils sont présents à des concentrations élevées avec des degrés différents d'un élément à l'autre, selon l'affinité du secteur émetteur. Ces composés créent un état environnemental délicat pour la santé humaine et les écosystèmes en général. Pour pallier à ce problème, de nombreux procédés d'extraction de ces impuretés métalliques des milieux liquides ont été étudiés et mis en application. Parmi ceux-ci des méthodes physiques, chimiques (CHATTERJEE et al. 2010, POPESCU et PASARE. 2006), l'oxydation par un autre métal (LEE et al. 2003), l'extraction et la récupération des ions métalliques dans un solvant organique coexistant qui contient l'agent d'extraction (Ghezzi et al. 2008), l'utilisation de particules de sol en général, des argiles et silts en particulier pour l'adsorption des métaux (ADEBOWALE et al. 2005). D'autres procédés biologiques apportent des résultats appréciés.

5-Les polluants émergents dans les eaux :

Certains auteurs les appellent polluants récents, d'autres les regroupent dans le contexte des « perturbateurs endocriniens ». Ainsi appelle-t-on un ensemble de produits xénobiotiques,

naturels ou de synthèse, qui peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants. Ce sont des produits qui ont émergés récemment (O.M.S. 2002) dans nos écosystèmes avec des problématiques environnementales et sanitaires. Parmi ceux-là, les pesticides, les médicaments, les phtalates, les plastifiants et autres, utilisés dans l'industrie, l'agriculture ou comme conservateurs alimentaires, les surfactants, les antidépresseurs, les analgésiques, les anti-inflammatoires, les hormones de sécrétion, de traitement et de contraception et autres utilisés chez l'Homme mais aussi dans les élevages de poissons, crevettes, volailles et bétail. En plus de leurs effets d'altération de la fonction endocrinienne naturelle, ils causent des problèmes divers de santé chez l'Homme et la faune (VOS et al. 2000, LOCATELLI et al. 2016). Ils ont un mode d'action qui mime ou s'oppose aux vraies hormones naturelles en interférant et prenant la place de ces molécules et/ou bloquent leur site d'attache. Un tas de syndromes et dysfonctionnement de la santé sont en relation avec ces composés chimiques. Parmi ces anomalies : la baisse de l'immunité, la perturbation de la reproduction, l'augmentation de l'incidence des cancers, la baisse des populations et de la richesse spécifique (PARK et al. 2011, RODRIGUEZ et al. 2014, SALAMUN et al. 2012, GUTIERREZ. 2016) et l'altération des fonctions nerveuses (VOS et al. 2000, SCHANTZ et WIDHOLM. 2001, KORTENKAMP. 2007, MCKINLAY et al. 2008, JIN et al. 2012, GREGORASZCZUK et PTAK. 2013, YUANXIANG et al. 2014).

II-La contamination microbiologique des eaux :

1-Les bactéries dans les eaux :

Les communautés de microorganismes vivants dans les écosystèmes aquatiques sont d'une diversité remarquable à l'image même de la diversité des milieux et des conditions physico-chimiques. Il y a autant de populations que de milieux. On distingue ainsi les communautés microbiennes des eaux courantes, des eaux stagnantes, des mers et océans, des aquifères, des puits, des eaux potables, des STEP, des boues activées, des lits bactériens etc...

Les milieux aquatiques sont d'un extrême intérêt pour la faune et la flore et particulièrement pour l'Homme dont la santé dépend directement de leur qualité chimique et microbiologique.

Les eaux souillées par les déjections animales et humaines, regorgent de microorganismes virulents. Leur transmission à l'homme se fait par simple ingestion d'eau infectée. Ils se propagent rapidement dans les zones qui ne disposent pas d'infrastructures adéquates et

de conditions d'hygiène. L'O.M.S. estime que dans le monde entier, les maladies infectieuses transmises par les aliments et l'eau ont été responsables de trois millions de décès en 1995 dont 80 % étaient des enfants de moins de cinq ans (MORRIS et al. (1996). Une estimation chiffre à 99 millions le nombre d'infections gastro-intestinales déclarées chaque année aux États-Unis. Moins du tiers pourrait avoir pour origine un contact avec des pathogènes présents dans l'eau (GTPS. 1996). Avec la croissance démographique que connaît le Maroc, les changements climatiques et le développement industriel et agricole, le contrôle et la surveillance de la qualité des eaux de surface et des eaux en général, devraient susciter un intérêt particulier (EL OUALI et al. 2011, EL HAITI. 1991). Dans les pays où l'agriculture est de grande envergure et dans certaines zones d'élevage intensif, notamment celui du porc et des bovins, l'atteinte aux ressources hydriques et le stockage des déjections (lisier et fumier) sont un problème crucial constituant des réservoirs de contaminants bactériens, avec des risques pour la santé animale et humaine. En effet, tant l'épandage de ces déjections sur les parcelles agricoles que leur écoulement (jus de lisier ou fumier) participent à une souillure microbienne importante.

2-Les eaux usées et la dissémination des pathogènes :

Le rejet des eaux usées diluées par les eaux de pluie dans le milieu naturel est une solution souvent utilisée par les ingénieurs pour des raisons d'économie. Entre Settat et Berrechide, la pluviométrie corrélée à la topographie « faible pente », les extensions urbaines et leur raccordement sur l'ancien réseau conduisent à des flots noirs qui envahissent des champs agricoles par endroit. La station d'épuration, quand elle est en trop-plein, évacue les eaux usées contaminées mélangées aux eaux pluviales dans le milieu naturel. En fait, aucune infrastructure ne peut contenir des quantités de pluies énormes, surtout dans des pays très humides. Les débordements par rapport au débit en temps sec se produisent dans les réseaux d'assainissement unitaires et font varier la fréquence de coliformes fécaux par dilution par rapport à ce temps. La charge en pollution microbienne est alors plus faible que celle des eaux usées. Dans ce dernier cas, elle peut atteindre quatre fois sa fréquence initiale (cf. figure ci-dessous. (Gouvernement du Québec. (2015)). Ce type de ruissellement constitue un apport important en contaminants, pathogènes et parasites et contribue ainsi à la dégradation de la qualité des eaux des plans naturels, des sols et constitue un moyen de dispersion et de recolonisation microbienne du milieu naturel. Dans tous les cas et partout dans le monde, même les eaux ayant transité par des ouvrages de traitements (STEP), sont en fin de compte

rejetées plus ou moins traitées mais pas complètement désinfectées et aboutissent dans les rivières, les lacs et les mers avec des conséquences connues sur les écosystèmes.

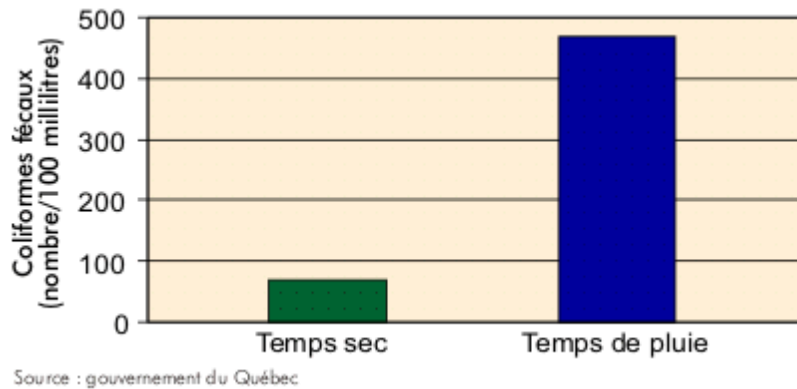


Fig N°1. Variation des coliformes en fonction des précipitations (Gouvernement du Québec. 2015)

3-Les microorganismes dans les eaux des mers :

Le début des recherches consacrées à la microbiologie marine remonte approximativement aux quinze dernières années du 19^{ème} siècle. L'intérêt de telles recherches entraîna rapidement de nombreuses prospections. Fischer à partir de 1888, commença à révéler la présence de bactéries d'origine terrestre dans la zone littorale. Les populations microbiennes sont beaucoup plus importantes à proximité des côtes qu'en haute mer et ce jusqu'à une profondeur de 400 m (BRISOU. 1968). En plus des pollutions chimiques qui modifient la faune et la flore aquatique d'une manière telle que les incidences économiques sont parfois très graves, les eaux de mer sont aussi contaminées par l'apport de microbes, de virus et de parasites (BRISOU. 1968).

La pollution microbiologique est une forme de pollution organique émanant surtout des eaux usées, provenant des milieux ruraux où l'on identifie souvent les déficiences de la gestion sanitaire qui devient la principale cause de contamination microbiologique dans le réseau hydrographique en entier.

Malgré le milieu hostile, les entérobactéries aboutissant en eau de mer gardent un pouvoir de germer. En effet, le concept de mortalité de ces bactéries, quasi dogmatique jusqu'aux années 1970, a profondément changé avec le développement des techniques permettant le dénombrement direct des bactéries vivantes. On a alors pu montrer que ces germes évoluent dans l'eau de mer vers un état stressé éventuellement revivifiable, puis vers

un état dormant viable mais non cultivable, sous lequel elles conserveraient leur pouvoir pathogène (GAUTHIER et al. 1993). Le devenir des bactéries d'origine fécale en mer est lié à des phénomènes physiques de dilution, de sédimentation et à des phénomènes biologiques (évolution de la bactérie en milieu hostile). La qualité intrinsèque du milieu récepteur joue donc un rôle important vis-à-vis du devenir des bactéries entériques en mer et il est important de l'appréhender. Ainsi, le temps de mortalité des bactéries fécales est une fonction des conditions locales telles que la qualité du rayonnement solaire, l'oligotrophie du milieu, la température... Ces bactéries "stressées" resteraient présentes dans l'eau, les sédiments et les coquillages en préservant une activité métabolique ralentie. Leur devenir et surtout le maintien de leur pouvoir pathogène est inconnu (DEAL. 1994). Les coquillages, consommés crus ou peu cuits, peuvent être à l'origine de toxoinfections alimentaires (TIA), comme l'ensemble des denrées consommables dont les symptômes sont le plus souvent de nature digestive. Les bactéries et les virus sont les agents le plus souvent impliqués dans les toxoinfections engendrées par la consommation de coquillages (MONFORT. 2006). Le mode filtrant du régime alimentaire chez les bivalves, ainsi que leur consommation par l'Homme en fait un risque de contamination assez fréquent dans les zones littorales.

4-Les bactéries des eaux de puits :

Dans bien des cas, les eaux émergentes au niveau des puits sont souillées par un apport de bactéries d'origine anthropique ou animal. L'eau de puits demeure le système le plus répandu pour l'alimentation en eau potable dans les pays arides dont notamment certaines zones d'Afrique. Ce type d'eau n'échappe pas à la contamination et devient un vecteur de pandémies si des mesures draconiennes de sécurité sanitaires ne sont pas prises. D'après DEGBEY et al. 2011, les eaux de 110 puits étudiés se sont avérées contaminées par les *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Clostridium perfringens* et les streptocoques fécaux qui ont respectivement une prévalence de 12,5 ; 12,2 ; 12,2 ; 12,1 ; 12 et 11,1 % pour l'ensemble des germes identifiés (DEGBEY et al. 2011).

Tableau N° 2. Prévalence des micro-organismes dans les eaux de puits (Emprunté à DEGBEY et al. 2011).

Micro-organismes identifiés	Nombre de fois retrouvés	Pourcentage
<i>Escherichia coli</i>	110	12,5
<i>Streptocoques fécaux</i>	97	11,1
<i>Clostridium perfringens</i>	105	12
<i>Salmonella spp.</i>	106	12,1
<i>Shigella spp.</i>	106	12,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	107	12,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	104	11,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	107	12,2
<i>Candida albicans</i>	34	3,9
Total	876	100

5-Les maladies hydriques :

La contamination des eaux de surface par des agents pathogènes est un phénomène qui remonte très loin dans le temps. Au cours du 19^{ème} siècle, les maladies hydriques liées à la mauvaise qualité des eaux potables ou d'un autre usage (baignade, irrigation...) étaient nombreuses et leur effet sur la santé pouvait aller d'une simple douleur à une pandémie mortelle. Aujourd'hui encore, des pays plus que d'autres sont connus pour les ravages causés par ces maladies hydriques (par des bactéries, des virus ou des parasites). Les principales maladies sont : le choléra, le paludisme, la dengue, les diarrhées, la diarrhée du voyageur, les hépatites (hépatite A et hépatite E), la typhoïde, certaines méningites et la leptospirose.

Les maladies d'origine hydrique ont été jadis, responsables de vastes épidémies de dysenterie, de fièvre typhoïde et de choléra, entre autres (GEORGE et SERVAIS. 2002). Aujourd'hui, certaines de ces maladies sont à l'origine d'un taux de mortalité encore très élevé, des populations des pays en voie de développement. Dans le monde, environ 6 millions d'enfants meurent chaque année des suites de gastro-entérites, 100 millions de personnes souffrent en permanence de gastro-entérites hydriques, 260 millions d'individus sont atteints de bilharziose, 2 à 3 millions de décès sont observés chaque année parmi les 800 millions de sujets impaludés et 30 millions d'onchocercose sont dénombrés (Conseil National de la Recherche Scientifique Libanais. 2004).

La pollution de l'eau due à des micro-organismes d'origine fécale est apparue très tôt dès que l'eau a été utilisée comme vecteur de l'élimination des déchets (GEORGE et SERVAIS. 2002). Si le milieu aquatique reçoit des rejets d'origine animale ou anthropique, le

nombre et le type de bactéries présentes sont capables de rendre l'eau impropre à l'utilisation humaine (HEBERT et LEGARE. 2000).

6-Mode d'action des microorganismes sur la santé humaine :

6-1-La flore en question :

Les entérobactéries, comme leur nom l'indique, habitent les intestins. Le gros intestin est littéralement envahi par Bacteroides sp, Pseudomonas aeruginosa, une bactérie opportuniste, capable de se développer sur n'importe quel support y compris la peau, les muqueuses et le tube digestif. Cette bactérie, souvent antibiorésistante, responsable de nombreuses infections nosocomiales, pose des problèmes d'hygiène hospitalière.

Les espèces les mieux représentées sont Escherichia coli, Proteus sp, Klebsiella sp, Enterobacter sp. et Citrobacter sp. De très nombreuses espèces de Clostridium sp colonisent naturellement le gros intestin. Ces germes, Gram négatif, anaérobies stricts, non sporulant, colonisent le côlon surtout des consommateurs de viande. Ils sont à l'origine de colites et seraient la cause du cancer du côlon. Le Clostridium difficile est une espèce envahissante, provoquant des diarrhées. Ceci se produit le plus souvent après un traitement antibiotique (phénomène de remplacement bactérien). Tandis que le Clostridium tetani, bien que pathogène, est l'hôte normal de plus du quart des populations. Cette bactérie n'envahit toutefois jamais l'intestin.

Les coliformes totaux constituent un groupe de bactéries que l'on retrouve fréquemment dans l'environnement, par exemple dans le sol ou la végétation, ainsi que dans les intestins des mammifères, dont les êtres humains. Les coliformes totaux n'entraînent en général aucune maladie, mais leur présence indique qu'une source d'approvisionnement en eau peut être contaminée par des micro-organismes nuisibles.

6-2-Les risques d'infection :

Suite à une contamination, il peut avoir quatre cas de figure :

-Les risques infectieux : c'est l'effet de pénétration et de multiplication d'un microorganisme d'une paroi protectrice du corps. Selon cet agent, l'effet sur la santé sera variable suivant la situation géographique, la gravité, le temps et selon surtout l'état de santé de l'individu.

La giardiase est un de ces malaises que peuvent contracter les usagers d'eau impropre à la consommation. La prévalence de contamination à ce parasite (G. intestinalis) a été

d'ailleurs étudiée dans la région même de notre étude : La contamination est de 11 fois plus élevée que la valeur témoin (EL KETTANI et al. 2006) dans un périmètre où les eaux usées de la ville de Settat, sont libérées.

-Les risques immuno-allergiques : une allergie est une réaction d'hypersensibilité de l'organisme suite à l'introduction d'un allergène. Le seuil de déclenchement est fonction du temps et différent d'une personne à une autre.

-Les risques toxiques : la ou les toxines libérées par l'agent intrus peuvent engendrer des troubles plus ou moins graves, parfois mortels.

-Les risques cancérigènes : Certaines de ces infections deviennent chroniques et aboutissent parfois à une prolifération cellulaire désordonnée provoquant un cancer.

7-Méthodes de lutte contre les pathogènes :

L'hygiène et la prévention notamment par la vaccination, restent des moyens pour réduire les risques de pandémies et de maladies infectieuses mais qui ne sont pas efficaces à 100%. Ce sont les procédés d'épuration des eaux potables et des eaux usées qui freinent et limitent les pandémies. Les techniques de traitement utilisées pour éliminer ou inactiver les micro-organismes pathogènes dans les eaux comprennent la coagulation, la floculation, la filtration et la désinfection. Cette dernière nécessite la présence d'un désinfectant résiduel essentiel dans le système de distribution pour le maintien d'un approvisionnement en eau potable. Au Maroc, l'usage de la chloration est la méthode de choix alors qu'elle est interdite dans les pays développés comme aux USA car accusé d'être cancérigène. Les systèmes de filtration au carbone pour pichets ne permettent pas de supprimer les bactéries présentes dans l'eau qui ne disparaissent qu'après un gros bouillon à l'eau chaude pendant au moins une minute. Pour la décontamination microbienne de grands volumes, des méthodes de traitement sont effectuées selon les pays et selon le cas. Les systèmes de désinfection permanents au point d'entrée utilisent souvent :

- La chloration (de plus en plus évitée de nos jours) ;
- L'ozonation ;
- Les rayons ultraviolets (rayons UV) ;
- La distillation.

D'autres méthodes de traitements des eaux se font avec des produits chimiques (brome, dioxyde de chlore, cuivre ionisé, sels de cuivre, d'argent ionisé, ozone, peroxyde d'hydrogène et d'acide peroxyacétique), ou des traitements physiques par la filtration, la chaleur et le

rayonnement ultraviolet et enfin des solutions écologiques telles que la filtration lente sur sable.

8-Résistances des pathogènes :

Cependant, la résistance de bactéries est à prendre au sérieux. En effet, des souches de *E. coli* sont retrouvées dans les cours d'eau en aval des points de déversement des effluents traités provenant de stations d'épuration. Ce qui montre que l'activité humaine a un impact sur les changements des écosystèmes aquatiques, notamment en termes de multirésistance aux antibiotiques (DRIEUX-ROUZET et JARLIER. 2014).

Chapitre II- Les sols, les êtres vivants et les ETM

I-Le sol :

1-Définition d'un sol :

Le sol est un substrat meuble à l'interface terre-atmosphère, résultat de la sédimentation de particules de taille et de caractéristiques variées selon les roches mères d'origine, les étapes d'érosion et les conditions de sédimentation. Le sol est une entité évolutive à long terme en relation avec les changements de l'écosystème, le climat et les activités des biocénoses

1-1-Les sols argileux :

Les sols argileux est le type qui couvre la Chaouia en général et la région de Berrechide en particulier, à quelques exceptions près.

Géologiquement, un sol argileux est défini comme étant des feuillets de silicates d'alumines hydratées. L'argile désigne une grande variété de roches argileuses qui peuvent être de différentes couleurs (verte, rouge, bleue, jaune, grise, blanc, brune, rose...). Sa couleur varie en fonction des oxydes de fer (limonite) qu'elle renferme.

En agriculture, un sol argileux est extrêmement lourd et compact. Il laisse difficilement passer l'eau après saturation. En période de sécheresse, il devient très dur et se fendille. La réhydratation est alors longue et difficile. Par temps humide et à saturation, un sol argileux gonfle et augmente de volume. L'eau a alors une tendance à s'accumuler à la surface du sol, ce qui le rend boueux, collant et imperméable. Les sols argileux sont connus, par leur étanchéité à saturation en eau, pour être les générateurs des nappes phréatiques.

Le terme argile recouvre un ensemble de minéraux argileux mélangés souvent à d'autres constituants tels que sable, calcaire, oxydes de fer (IRD). L'argile est le plus ancien

matériau minéral utilisé par l'Homme pour la construction, la poterie, la fabrication de briques, de tablettes pour l'écriture, le façonnage de statuettes, de masques. Elle est actuellement l'une des plus importantes matières premières industrielles : ciment, isolation, revêtement réfractaire, boues de forage, charge et enduit du papier... Ses propriétés absorbantes (absorber = laisser pénétrer en profondeur) et adsorbants (adsorber = fixer en surface) sont utilisées pour le dégraissage des tissus, de la laine, la filtration des vins, des bières, la clarification des eaux, la catalyse de réactions chimiques. Les suspensions colloïdales stables font de l'argile un support pour la préparation des cirages, des encaustiques, des cosmétiques, des pesticides, des produits de polissage (IRD).

1-2-La pollution minérale des sols :

1-2-1-Le sol et les apports exogènes en ETM :

De nos jours, les activités humaines incessantes et diversifiées créent des transferts de matières sous des aspects multiples. Ces mouvements de matières tant solubles qu'en suspension dans les eaux, sous forme gazeuse ou en aérosol, aboutissent partout dans les écosystèmes. Le sol est un de ces supports ouvert à la contamination. Il en est constamment envahi par les apports et les échanges avec le milieu environnant. Certaines substances franchissent facilement l'épaisseur de ce support, d'autres auront du mal à passer ou sont plutôt collées par les molécules du sol (adsorption). Dès lors, il y a complexations de différents additifs entre eux et avec les composantes de la matrice. Les pesticides par exemple, peuvent se lier aux cations minéraux et former des complexes stables et cumulables qui modifient les propriétés du pesticide (FLOGEAC. 2004) et la structure du sol, conduisant à des déséquilibres plus ou moins graves. Les minéraux argileux peuvent fixer puis larguer des cations métalliques en fonction de leur capacité d'échange cationique en relation avec le type d'argile (ROBERT.1996, FLOGEAC. 2004). Ils sont connus par leur contenu important en oxydes dont surtout les oxydes de fer et de magnésium qui leur confèrent des teintes foncées (Tirs = marron foncé de la Chaouia) et qui dépassent souvent les valeurs d'autres minéraux.

L'adsorption d'un sol est essentielle comme un support de fixation des éléments minéraux. Cela détermine sa « capacité d'échanges anioniques » qui représente son indice de fertilité, variable avec les valeurs du pH. La mobilité des métaux dans un sol peut être latérale, verticale ascendante dans les végétaux ou descendante dans le profil du sol et peut atteindre la nappe phréatique si le sol est perméable. Des concentrations élevées décroissantes de la

surface vers la profondeur sont souvent le cas (WU et al. 2015). Les paramètres physico-chimiques dont le pH, ont un grand rôle dans l'adsorption, les complexations, la précipitation et la percolation des ions métalliques (ALLOWAY. 1995, PAGNANELLI et al. 2009), ainsi que leurs assimilations par les végétaux. Ainsi, l'utilisation des boues résiduelles des stations d'épuration dans l'agriculture a pour but l'amélioration des propriétés de certains sols, la soustraction des ions métalliques, l'augmentation de la biomasse, en plus du fait de se débarrasser de ces boues elles-mêmes. Seulement, des taux élevés de certains composés chimiques, parfois dangereux, rendent cette application délicate et néfaste pour la santé humaine et les écosystèmes.

La découverte des effets néfastes des métaux lourds dont certains ont été d'usage depuis l'aube de l'humanité (plomb) a commencé vers les années soixante-dix du siècle dernier quand elles ont été mises en évidence d'abord aux USA puis au Japon (MONNA. 2008).

1-2-2-ETM dans les sols :

Les sols contiennent naturellement une certaine concentration de métaux lourds qui dépend de la nature de la roche mère et de l'évolution géologique et selon les processus pédogénèses : C'est le fond pédogéochimique (ADRIANO.1986, BAIZE.2009), qui peut être localement élevée au point d'engendrer une sérieuse surestimation de l'impact anthropique (BAIZE et al.1999, MONNA. 2008). Des valeurs top élevées sont atteintes par le Fer et le Manganèse dans des sols argileux ou des sols marron.

Dans les sédiments également, les ETM sont censés avoir des concentrations élevées. Ces particules sont très fines et ne sont autres que les silts et argiles présentant de multiples interfaces et de grandes surfaces de contact, notamment pour l'adsorption. Cette particularité en fait justement les fractions qui fixent une quantité élevée de métaux lourds. Les sédiments sont l'évier de métaux lourds (CHANG et al 2014.), grâce en effet, à leurs dimensions, leur pouvoir d'adsorption et leur nature organique ou minérale. Plus de 90% des charges en métaux lourds sont associés aux matières en suspension et les particules fines des sédiments des écosystèmes aquatiques (WANG et al 2015). Les sédiments par leur mobilité sont facilement dispersibles dans les eaux et les biotopes. Ceci selon leur répartition spatio-temporelle, leur pouvoir d'adsorption/désorption, leur capacité de floculation, la remise en suspension, leur adhésion aux complexes organique/inorganique et leur fixation par les êtres vivants (CINDRIC et al. 2015).

Les ETM peuvent être extraits chimiquement des sédiments (milieu solide), entre autres, par la technique d'électrodialyse (PEDERSON et al 2015), par voltampérométrie à impulsion différentielle inverse (CINDRIC et al. 2015)...ou d'une façon biologique par bioremédiation dans une matrice solide ou liquide (STEP). Celle-ci utilise les plantations de végétaux comme moyen d'absorber les métaux et de les soustraire du milieu.

1-2-3-Caractéristiques et mobilité des ETM :

Chaque élément métallique a des spécificités physico-chimiques qui permettent une plus ou moins circulation dans les écosystèmes. Ainsi, on peut citer trois caractéristiques pour un élément donné :

-**La spéciation** qui consiste à répartir des éléments dans un système ou écosystème donné solide ou liquide (TEMPLETON et al. 2000, LOPAREVA-POHU. 2011), selon des caractéristiques physiques ou chimiques et également selon les différentes phases.

-**La mobilité** est l'aptitude d'un élément métallique à circuler dans les systèmes environnementaux, incluant notamment les forces des énergies avec lesquelles ils peuvent être retenus avec le moins de dépense d'énergie possible (JUSTE. 1988) et dans différentes dimensions.

-**La biodisponibilité** : les caractéristiques précédentes induisent une certaine biodisponibilité des éléments, notamment la capacité à traverser une membrane cellulaire animale ou végétale (LEBOURG et al. 1996, LOPAREVA-POHU. 2011). La mobilité et la biodisponibilité sont liées et dépendent d'un certain nombre de facteurs physico-chimiques dont le pH, le potentiel redox, la texture et la structure du sol, la capacité d'échange des ions, l'humidité... (ALLOWAY.1995, JUSTE.1988).

1-2-4-Contamination des sols via l'irrigation par les eaux usées :

L'usage des eaux usées dans l'irrigation entraîne toute une chaîne de modification des propriétés physico-chimiques du sol (DAI et al. 2006) et de profonds changements dans le comportement des cultures suite à la biodisponibilité des métaux lourds. La faune du sol et certaines plantes sont assez utilisées comme bio-indicateurs notamment des métaux lourds. Le devenir des métaux, entre autres, a fait l'objet d'étude dont le schéma ci-dessous est extrait :

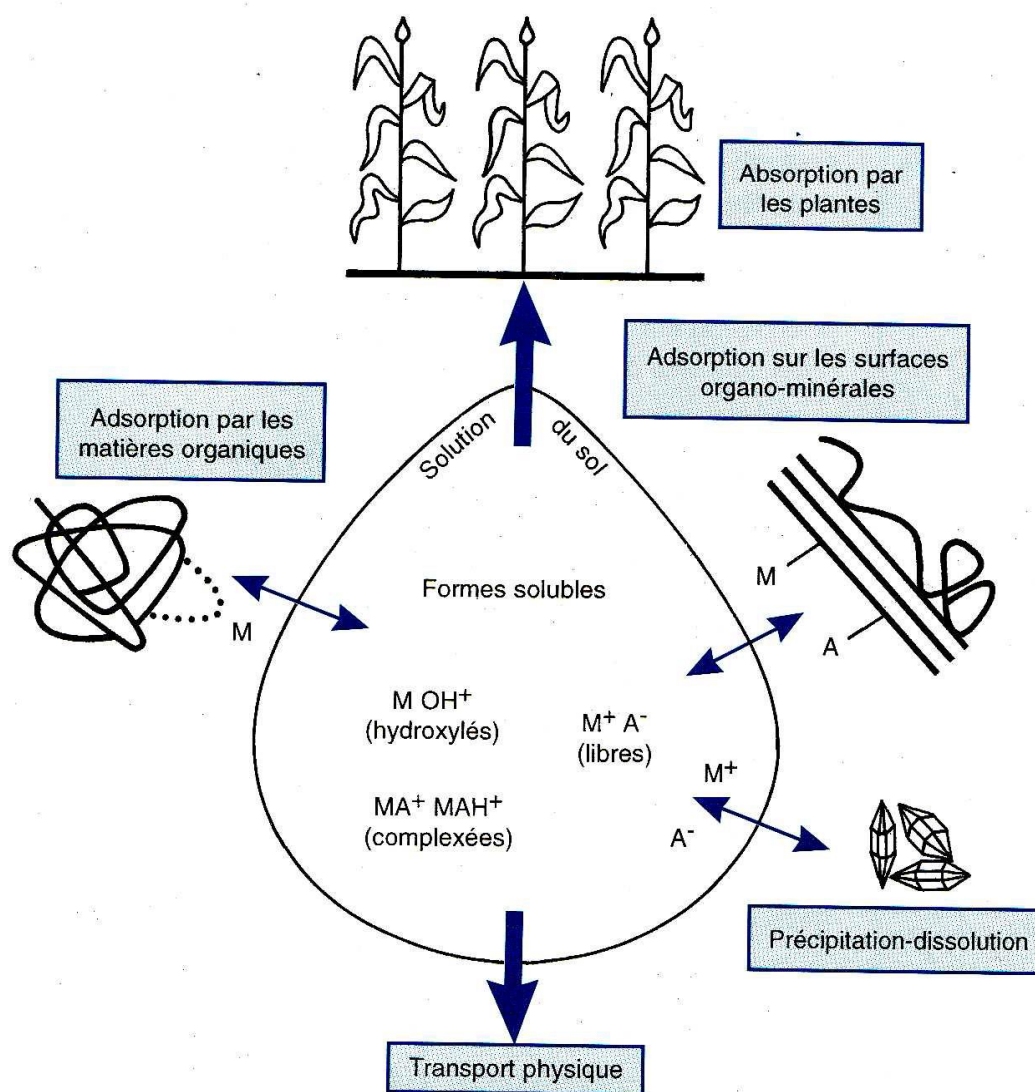


Fig N° 2. Devenir des ETM (et pesticides) dans le sol. (D'après CAMUZARD. 2000).

En fait, ce schéma est plus complexe. D'autres paramètres interfèrent dans ces échanges. La texture du sol par exemple a un effet sur les différentes phases, notamment le transfert physique qui permet de contrôler plus ou moins l'infiltration des métaux plutôt que leur adsorption. Tandis que dans le cas de sols argileux, il y aura prévalence de l'adsorption grâce à la structure en feuillets.

II-Les ETM et les êtres vivants :

1-Cas des microorganismes :

La microflore et la microfaune, les bactéries et les champignons jouent un rôle dans l'accumulation jusqu'à 30% de leur masse en métaux par la biosorption. C'est un processus

d'adsorption ou de complexations par des cellules mortes et des constituants cellulaires biosorbants, avec fixation d'ions métalliques par divers groupements chimiques fonctionnels présents dans les parois cellulaires (CAMUZARD. 2000). Elles jouent également un rôle dans la dégradation des complexes organométalliques en utilisant le ligand organique contre la libération du minéral. Certains microorganismes et certaines conditions de milieu en particulier anaérobies favorisent la production de substances à fort pouvoir de complexations d'éléments minéraux (fer, aluminium, cuivre, zinc, plomb, uranium) (STENGEL et al.1998, CAMUZARD. 2000). D'autre part, les ETM ont trois voies de possibilités d'être distribués dans le milieu, à partir d'une solution du sol (CAMUZARD. 2000), soit l'adsorption à la fois par le complexe de matière organique ou l'adsorption par le complexe organo-minéral, soit par dissolution-précipitation. De ces deux dernières dépendra la disponibilité de ces ETM et la quantité qui va être absorbée par les végétaux ou celle qui va être entraînée par lessivage.

2-Cas des végétaux supérieurs :

Les végétaux reflètent plus que les autres êtres vivants la réalité chimique et physique du substrat, du fait qu'ils sont omniprésents et fixes dans le sol et subissent en continu les effets des différents produits transitant par le sol. De grandes bioconcentrations de métaux ont été constatées dans certaines parties de la plante, essentiellement au niveau des racines. D'un côté morphologique et en présence de métaux, la longueur des racines diminue alors que celle des pousses, de la surface foliaire et la biomasse augmentent d'une façon significative (SINGH et AGRAWAL. 2010). Des études ont montré que le rendement du riz irrigué par des eaux insalubres augmente de 60% avec des concentrations de Ni et de Cd dans les grains. Cette concentration est au-dessus des limites de sécurité en Inde, qui est de 1,5 mg kg⁻¹ (SINGH et AGRAWAL. 2010, TSADILAS et al. 1995).

Cependant, dans bien des cas, différentes espèces végétales et animales ont développé une adaptation à des concentrations élevées en métaux lourds (BEEBY. 1989, NAHMANI. 2003) et une façon de les diminuer. Ce phénomène est également connu chez les essences composant la mangrove (forêt du rivage aquatique maritime). Avec le temps, la végétation qui y pousse absorbe trop de sel et n'a point de solution que de le concentrer dans les feuilles pour le faire chuter par la suite.

Dans une plante, l'absorption d'eau via les racines et l'interception de la pluie par le feuillage limitent les flux d'eau dans le sol et ainsi la lixiviation des ETM. Tandis que les l'apport en matière organique des racines et de feuilles mortes, contribuent à la structure du

sol, influencent les paramètres physico-chimiques du sol (pH, potentiel redox, humidité, aération, activité...) et favorisent son activité biologique. Ce qui permet de diminuer l'érosion et le transfert des ETM. Cependant, elles peuvent créer des macropores qui peuvent faciliter le flux des ETM vers la profondeur par percolation (ROBINSON et al. 2009).

Des analyses de métaux lourds dans des plantes (YE et al. 2013) ont montré des disparités dans les parties des plantes d'une même espèce et dans le temps : les concentrations étaient plus élevées en automne qu'au printemps, plus élevées dans les racines que dans la partie aérienne excepté pour le zinc. Il n'y a aucune différence significative d'une espèce à l'autre. Dans le voisinage d'un sol contaminé, des parties de plantes métallophytes et des échantillons du sol ont été analysés pour les concentrations en Zn, Cd, Pb et Cu. Le sol présente alors deux types de concentrations métalliques dominantes avec la profondeur. Sous les métallophytes absolus, un contenu extrêmement élevé de métaux a été mesuré dans la surface, suivi d'une forte baisse dans les horizons du sol sous-jacents (DAHMANI-MULLER et al. 2000).

3-Cas chez les animaux :

Le comportement des êtres vivants animaux a été largement étudié. Il est connu chez les gastéropodes terrestres (BEEBY. 1989, NAHMANI. 2003) qui vivent sur des sols hautement chargés en métaux et se nourrissent d'une végétation également concentrée en ces éléments. Il y a une adaptation qui peut être attribuée probablement à des modifications tendant à réduire l'absorption de métaux ou à augmenter leur excrétion. L'étude sur une espèce d'escargot (BEEBY. 1989, NAHMANI. 2003), indicateur de la composition du milieu, via l'épandage en forêt des boues d'une STEP, qui représentent un sous-produit encombrant le processus de traitement des eaux usées, a montré que les concentrations en ETM ont été multipliées par 2 à 3 fois dans la litière, alors qu'il n'a pas d'effet sur la mortalité des escargots. Par contre, une bioaccumulation sélective a été constatée dans l'escargot vis à vis des éléments traces : le Zn présentait une accumulation faible par rapport au Pb et Cu qui ont augmenté significativement (BOURIOUG et al. 2015).

L'effet du plomb, comme celui du cadmium, dépend de l'espèce animale, de son âge (RUDY. 2009), la race, la manière et la forme dans laquelle ce métal pénètre dans un organisme (JAROSZ, 1994). Les ruminants sont les plus sensibles et les plus atteints (KRELOWSKA-KULAS.1993, SCHLERKA et SCHUH.1992). Dans la chaîne de zootechnie, le plomb est détecté dans tous les tissus des animaux (FALANDYSZ et CABON.

1990, MONKIEWICZ et JACZEWSKI. 1990, MORAWIEC.1991). Les organes atteints sont surtout les muscles, le foie et les reins des animaux d'élevage et de gibier, le lait, les œufs et le miel où l'on note une grande diversité du contenu en Cd, Hg, Pb et d'autres métaux lourds. La quantité varie de l'état de traces à des quantités dépassant plusieurs fois les valeurs physiologiques, selon les espèces des animaux, la phase de leur vie, le système de reproduction et la localisation de l'outil de reproduction (RUDY. 2009). La demi-vie biologique dépasse souvent la durée de vie de spécimens d'une espèce, 10-30 ans (FREIBERG et al. 1979, RUDY. 2009).

Le cadmium est un élément très toxique et cancérigène, à la fois pour les personnes et les animaux. Sa toxicité est renforcée par sa capacité à s'accumuler constamment dans les organismes vivants. Par exemple, le traitement d'un sol avec des boues de la STEP, induit des stress qui génèrent un bouleversement de la structure des nématodes traduite par : une diminution de la diversité spécifique, une augmentation de la dominance d'une certaine typologie au dépend d'autres et l'augmentation des interactions négatives comme le parasitisme (GEORGIEVA et al. 2002). L'analyse de concentrations globales (mg/kg) dans la viande de 711 individus appartenant à 11 espèces de poissons se révélait comme suit : Pb (0,03 à 8,62), Cd (0,02-0,06), Ni (0,44-9,75), Zn (15,7-29,5), Cr (0,22-0,65), Cu (0,79-2,26) et le Mn (0,82-6,91) (LEUNGET al. 2014).

4-Effets des ETM sur la santé humaine :

Les métaux lourds sont mauvais pour la santé humaine en raison de leur cytotoxicité, leur effet mutagène et cancérigène (RAJKUMAR et al. 2010). Le problème est très compliqué vis à vis des sources d'émanation des ETM, étant donné que les écosystèmes en entier sont pénétrés par ces produits. Les mécanismes physiologiques du corps ne peuvent les évacuer et déclencher la détoxification (CASTRO-GONZALEZ et MENDEZ-ARMENTA. 2008). L'exposition à long terme même à faible dose à des métaux lourds peut contribuer à la cancérogenèse chez les résidents au voisinage de sources des ETM (QIHONG. 2014). Par conséquent, les métaux lourds sont parmi la plupart des polluants qui ont retenu l'attention de nombreux pays et sont considérés comme la catégorie la plus dangereuse dans les composés nutritionnels. Ce sont des éléments qui peuvent endommager les nerfs, les os, le foie et bloquer les groupes fonctionnels des enzymes essentielles (SEPEHR et al. 2012). Bien des toxicités, notamment des néphrotoxicités, se sont révélées liées aux excès de métaux dans le milieu intérieur. Ainsi, la gravité de la toxicité sur les cellules des tubules rénaux est associée aux charges constantes systémiques de nitrilotriacétate (NTA) qui se sont révélées être

dépendantes de la disponibilité de zinc dans la circulation et dont la sévérité des lésions des cellules des tubules était proportionnelle à sa concentration (ANDERSON. 1981). La toxicité du plomb est plus néfaste et à effets divers sur les fonctions physiologiques du corps humain et selon l'âge du sujet qui l'a ingéré, les effets d'inhibition des enzymes, les actions sur l'acide désoxyribonucléique et l'acide ribonucléique et la similitude au calcium avec une compétitivité identique à celui-ci (GRANICK et al. 1978).

La pollution par les métaux lourds peut nuire au développement des organismes, réduire les conditions physiques des espèces et modifier la dynamique des populations, qui à leur tour peuvent avoir une incidence sur la fertilisation, le développement embryonnaire et la survie subséquente de la progéniture (AU et al. 2001). En effet, des troubles de la reproduction associés à l'exposition aux métaux lourds ont été fréquemment rapportés dans différents organismes y compris chez les insectes (HAGOPIAN-SCHLEKAT et al. 2001, SIEKIERSKA et URBANSKA-JASIK. 2002, BIELMYER et al. 2006, JIANG et al. 2007, GOPALAKRISHNAN et al. 2008, TIWARI et al. 2011, MA et al. 2013, HONGXIA et al. 2016). Des exemples de risques sanitaires non cancérogènes mais qui ont un effet sur le développement, des exemples de maladies cardiovasculaires, de neurotoxicité, du développement de taches dures au niveau de la peau, sur la paume des mains et la plante des pieds ont été rapportés (LEE et al. 2006).

5-Les procédés de décontamination des eaux et des sols :

5-1-Les STEP biologiques :

Les plantes des zones humides sont importantes pour l'adsorption et l'absorption des nutriments provenant des eaux et des substrats et fournissent de grandes surfaces pour la colonisation microbienne qui améliore la capacité de purification de la rhizosphère. Ainsi, un grand nombre de polluants potentiels de l'eau, de nutriments comme le N et P, les métaux lourds et une gamme de polluants industriels complexes ont pu être soustraits des sols grâce à ce type de plantes. C'est un processus biologique naturel qui présente un coût faible, facile à utiliser, avec un entretien réduit et des technologies classiques, tels que les processus de boues activées (STEFANAKIS et al. 2011, LI et al 20013, NELSON et WOLVERTON. 2011). Ces méthodes biologiques ont été mises au point durant plusieurs décennies, non seulement pour permettre l'extraction des minéraux contenus dans les eaux grises en général, que ce soit des eaux usées urbaines, industrielles ou de rejets des activités agricoles, mais aussi et surtout pour identifier les facteurs les plus importants qui affectent l'efficacité de l'élimination et de

la dynamique des métaux et métalloïdes (NICHOLSON et al. 2003). Parmi ces processus, l'usage de différents microorganismes algues, bactéries (KAZUICHI et al. 2015) et champignons, par l'assimilation des excédents métalliques (NOGUEIRA et al. 2015). L'absorption par les algues s'est révélée une technologie prometteuse et rentable pour l'élimination des métaux lourds dans les milieux en comparaison avec d'autres techniques comme la réduction chimique, l'échange d'ions, la précipitation et la séparation par membrane ; ceci avec un coût réduit et un rendement élevé (HE et CHEN. 2014).

Les plantes endémiques sur des sols amendés par les boues résiduelles de l'épuration des eaux, ont plus de pouvoir à extraire les nutriments excessifs et les traces de métaux contenus dans les boues par leur absorption relativement élevée car non seulement tolérant aux conditions environnementales défavorables, mais aussi aptes à la remise en état des sites touchés par les boues d'épuration (SUCHKOVA et al. 2014). D'ailleurs, tous les procédés classiques d'usage dans l'épuration des eaux usées ne sont que des processus copiés de la nature (autoépuration) et étudiés, améliorés par modélisation afin de perfectionner leur rendement épuratif : des réacteurs biologiques.

D'autres mécanismes adoptent la mise en croissance de macrophytes hygrophiles dans les bassins d'épuration (roseau, jacinthe...). Ce sont là des mécanismes peu coûteux mais avec des contraintes climatiques.

5-2-Les procédés de remédiations biologiques des sols :

On sait depuis longtemps que la présence d'un couvert végétal induit ou stimule la biodégradation d'une grande variété de contaminants organiques (REILLEY et al. 1996). Par ailleurs, certaines plantes, dites métallobytes, sont capables de se développer normalement sur des sites fortement contaminés par divers métaux et certains de ces végétaux, qualifiés d'hyperaccumulateurs (BROOKS. 1998), sont capables de stocker massivement les métaux dans leurs parties aériennes (REMON. 2006)

Des êtres vivants ont été utilisés comme accumulateurs, chélateurs et adsorbants des ETM. De la littérature scientifique à titre d'exemple, il a été constaté que les champignons fournissent un système approprié et efficace pour le nettoyage environnemental à travers le processus de la chélation.

III-Les ETM dans cultures :

1-Chez les cultures en général :

Les végétaux comme tous les êtres vivants reçoivent les apports de nutriments de plusieurs origines (eaux usées, fumée des usines, gaz d'échappement...), y compris les ETM qui sont assimilés dans les tissus des plantes. Certains ont des effets sur la croissance, la physiologie et le phénotype du végétal, alors que d'autres n'ont apparemment aucun effet (Cas du maïs dans notre étude)

Les teneurs de ces substances chimiques dans les végétaux à proximité des zones urbaines et des complexes industriels ont été étudiées. Ainsi, plusieurs chercheurs ont démontré que les plantes sensibles réagissent comme de véritables bioindicateurs de pollution. Cette technique de « biosurveillance » utilise des organismes végétaux qui ont la capacité de stocker les polluants dans leurs tissus ou sur leurs surfaces grâce à des mécanismes de fixation et de transfert. La toxicité d'un polluant peut donner naissance, selon les cas, à des symptômes spécifiques visibles en surface tels que des nécroses, des taches, etc., et altérer certaines fonctions physiologiques du végétal (MAATOUG et al. 2007).

L'expérience a montré que le cadmium et le cuivre inhibent les activités α -amylase et phosphatase acide, alors qu'aucun effet n'est observé sur celles β -amylase et phosphatase alcaline. L'ensemble de ces changements, associés à une baisse drastique de l'élongation racinaire, suggèrent que l'incidence négative de Cd et Cu sur la germination ne peut pas être liée à une restriction dans l'absorption de l'eau par les tissus de la graine, mais serait due, au moins, à des dysfonctionnements dans la mobilisation des réserves (MIHOUB et al. 2005)

2-Chez le maïs :

La plante maïs ou zea mays (Dra, kbal ou mazgour au Maroc), est un phanérophYTE, graminée, herbacée, originaire d'Amérique centrale. Sa taille à maturité est de l'ordre de 2 m environ selon le sol et le climat. Découvert en Amérique, il a été introduit en Europe puis dans les anciennes colonies européennes d'Afrique et dans toutes les régions où sa culture est rendu possible (méditerranéo-africaines puis dans les îles du pacifiques), juste après la découverte du « Nouveau Monde ». C'est une plante dite en C₃, à haut pouvoir d'assimilation et croît convenablement en été, pourvu qu'il y ait de l'eau. En effet c'est une plante qui demande une irrigation régulière. Elle présente une tige cylindrique avec des entrenœuds saillants auxquels s'attachent à chaque nœud, de part et d'autre, deux feuilles laminaires

longues. Le système racinaire est particulier chez le maïs avec plusieurs étages dont certains sont hors sol, peu développés et ne servent à rien. La plante peut donner 2 à 3 épis de grandeur variable selon les variétés.

Chapitre III- Les polluants transférés aux matrices agricoles :

I-Les pesticides :

1-Définition d'un pesticide :

Le pesticide est une substance chimique dangereuse, synthétisée pour combattre un fléau causé par un ravageur nuisible (insecticides, fongicides, acaricides, raticides,...), l'invasion d'une plante indésirable (herbicide) ou de tout autre être vivant indésirable. Les pesticides sont très largement d'usage en phytosanitaire pour stopper les dégâts causés par un être vivant, sans quoi, la production ou l'entreposage seraient entravés. Ils sont également très utilisés dans la prévention et le stockage des denrées alimentaires de tous genres et la préservation des bois de menuiserie contre les attaques fongiques et parasitaires. Cependant, autre l'objectif pour lequel il est destiné, un pesticide n'a pas de frontières et se disperse tant qu'il y a un moyen de sa propagation.

2-Contexte historique :

Depuis la fin du XIX siècle, il y a un changement significatif des pratiques culturelles : une augmentation du nombre d'espèces cultivées, un accroissement des rendements, la généralisation de l'usage des engrais, la mécanisation, la sélection variétale,... En parallèle à ces nouveautés et avec le progrès du trafic maritime, sont introduites dans divers pays bon nombre de plantes, de parasites et ravageurs (FOURCHE. 2004) qui deviennent nuisibles ou incontrôlables.

Les premiers usages de pesticides remontent au 18e siècle en Europe suite aux dégâts causés aux cultures et ayant provoqué parfois des famines. Le cas de l'apparition du mildiou de la pomme de terre de l'Irlande en 1845 (CALVET et al. 2005) a incité les chercheurs à trouver un moyen de lutte phytosanitaire. La recherche scientifique était à son point de départ et l'on ne se doutait d'aucun effet ultérieur probable de ces produits nouvellement découverts sur les écosystèmes et la santé. Après un peu plus d'un siècle, des problèmes et soucis apparaissent quant à leur usage tant d'un point de vue effets sur la santé que d'un point de vue résistance des ennemis ciblés. Aujourd'hui c'est un véritable défi qui a suscité beaucoup de remous dans les assises scientifiques.

En France, dès 2007, à la demande des ministères en charge de l'environnement et de l'agriculture, l'INRA a lancé une étude sur les itinéraires culturaux économes en pesticides (BUTAULT et al. 2010) : Un plan dit «Grenelle de l'environnement» fixe alors l'objectif pour réduire de moitié les usages des produits phytopharmaceutiques en 10 ans en accélérant la diffusion de méthodes alternatives sous réserve de leur mise au point.

3-Nature des pesticides :

Les pesticides comme leurs noms l'indiquent sont des agents biocides spécifiques pour combattre un quelconque ravage incontrôlable autrement. Ce sont des produits chimiques de synthèse. Ils représentent un outil puissant et incontournable pour l'agriculture dite moderne et la protection de la santé animale (KARASALI et MARAGOU. 2016), afin de pouvoir nourrir la poussée démographique des temps modernes. Les pesticides sont des produits transmissibles dans la chaîne alimentaire, bioaccumulables et dangereux pour la santé (BASSIL et al. 2007, PMID. 2012,...). Ils sont faiblement dégradables et ont une haute toxicité (GAR et al. 2015). Un pesticide est composé de deux parties : un ingrédient actif, molécule chimique faite pour contrôler le ravageur et une partie inerte qui joue le rôle de solvant et transporteur afin d'aider l'acheminement de la molécule active à destination. Les pesticides non solubles dans l'eau présentent des solvants organiques dangereux et préjudiciable à l'environnement (TENGFEI et al. 2015).

4-Mode d'action des pesticides :

L'usage est en rapport avec la systématique des groupes d'êtres vivants ciblés. Les produits phytosanitaires visent trois grands groupes d'êtres vivants : Les plantes (herbicides), les insectes (insecticides) et les champignons (fongicides). Le mode d'action de ces produits est extrêmement varié et étudié. Le produit peut agir par un simple contact avec la cible ou être absorbé (pesticide systémique). Certains sont sélectifs comme les désherbants qui affectent la plante visée, nuisible ou abondante sans porter atteinte à d'autres végétaux, ou encore un produit qui empêche la levée différentielle de certaines semences sans nuire à d'autres.

Tableau N° 3. Mode d'action des phytosanitaires selon leur façon d'agir. (Source : <http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/apropos.htm>).

Herbicide	
De contact	Agit sur les parties de la plante avec lesquelles il entre en contact.
Systémique	Absorbé par la plante, se déplace à l'intérieur de celle-ci.
Sélectif	Ne contrôle que certaines plantes parmi celles qui sont traitées.
Non-sélectif	Contrôle toutes les plantes traitées.
Résiduaire	Se dégrade lentement et contrôle les plantes pour une longue période.
Non-résiduaire	Est rapidement inactif après son application et ne contrôle les plantes que sur une courte période.
Fongicide	
Préventif	Protège la plante en empêchant que la maladie se développe.
Curatif	Réprime une maladie qui est déjà développée.
Insecticide	
De contact	Agit lorsque l'insecte entre en contact avec le produit.
D'inhalation	Agit lorsque l'insecte respire le produit.
D'ingestion	Agit lorsque l'insecte se nourrit du produit.

5-Les grands groupes de pesticides :

-**Les organophosphorés** : qui sont des composés de synthèse qui se dégradent assez rapidement dans l'environnement mais qui ont des effets neurotoxiques pour les vertébrés.

-**Les organochlorés** (hydrocarbures chlorés), composés organiques toxiques, hydrophobes qui ont été largement utilisés dans l'agriculture et la santé publique à travers le monde (LI et MACDONALD. 2005, ZHANG et al. 2011), sont des pesticides très stables chimiquement. Ils sont reconnus comme largement utilisés à tel point qu'ils deviennent ubiquistes et parfois bioaccumulables. Ils se retrouvent dans les composantes des écosystèmes y compris dans les effluents des stations d'épuration des eaux où ils deviennent une source de recontaminants (HADDAOUI et al. 2016).

A ces deux groupes s'ajoutent les pyréthroïdes qui sont des insecticides extraits de plantes et très toxiques pour les organismes aquatiques (Une pollution accidentelle des eaux par ces composés peut être dramatique). Les carbamates sont aussi très toxiques et utilisées comme insecticides et fongicides.

Ces phytosanitaires regroupent un très grand nombre de produits de la famille des triazines ou de fongicides.

6-Les pesticides dans les écosystèmes :

6-1-Dans l'air :

L'usage à grande envergure des pesticides a gagné toutes les contrées de par le monde. Certaines régions plus touchées que d'autres parce que ce sont de vastes plaines d'agroécosystèmes de monocultures. A partir de ces zones et étant donné que ces produits sont volatiles ou semi-volatils, des doses importantes peuvent gagner d'autres régions terrestres ou maritimes même loin des lieux d'application, menaçant ainsi toutes les formes de vie à différentes échelles (LIU et al. 2010, NASIR et al. 2014, (WILLETT et al. 1998, CHENGKAI et al. 2015). L'air est un compartiment facilement accessible par les produits volatiles, en général et un moyen rapide de leurs propagations.

6-2-Dans les sols :

Les sols deviennent de plus en plus des supports de polluants de toutes origines : ETM, pesticides, antibiotiques, composés plastiques, composés chimiques industriels,... De par leur rôle biologique primordial dans la dégradation et le recyclage de la matière organique et leur particularités de puits de carbone, ces sols sont en train de se convertir en une source d'émission secondaire de contaminants dans les eaux souterraines, les eaux de surface, l'air et de la biomasse. Les concentrations de ces produits dans le sol passent ensuite dans les cultures et la chaîne alimentaire, ce qui pose des risques, désormais bien connus, pour les écosystèmes et pour la santé humaine (HITES. 2004, LEMAIRE et al. 2004, NET et al. 2015, SUN et al. 2016). Ces phénomènes nouveaux pour la biosphère sont connus surtout dans les régions de fortes densités de populations, les grandes régions d'agriculture intensive et dans les pays dits émergents, grands consommateurs de produits chimiques pour une croissance économique rapide.

Les produits pesticides et autres, pulvérisés quelque part dans un écosystème, se propagent dans divers sens selon de multiples paramètres. Une partie part dans l'air et l'atmosphère et peut se retrouver à des milliers de Km de son point d'application (PASTOR-BELDA. et al 2015). Une autre proportion se retrouve dans les sols au point de pulvérisation et dans ceux lointains à moindre degré de concentration. De ce fait, les sols sont devenus pollués, en raison de la faible solubilité des pesticides, leur moindre volatilité, ainsi que leur forte adsorption par la matière organique (KOBILIZKOVA et al. 2009, KUMAR et al. 2009, TAO et al. 2008, ZHANG et al. 2011).

6-3-Dans les eaux :

Les pesticides arrivent dans les eaux via la dérive à partir de leurs lieux d'application, par lixiviation et le ruissellement en fonction des doses appliquées, après quoi leur capacité de se déplacer dans la phase liquide est influencée par les propriétés physico-chimiques de chaque type de pesticide. Un potentiel d'exposition environnemental (PEE) classe les pesticides en fonction de leur contamination des ressources hydriques (HALLENBECK et CUNNINGHAM-BUENS. 1985).

6-4-Dans le milieu aquatique pollué :

Les produits phytosanitaires présents dans les écosystèmes sont soumis à des réactions biotiques et abiotiques de rétention et de dégradation. L'expérimentation et l'assimilation au laboratoire d'un cours d'eau contaminé au parathion, en étudiant certains principaux facteurs naturels de dégradation comme l'hydrolyse, l'oxydation photochimique, les transformations biologiques et l'adsorption sur les sédiments. Le résultat montre une biodégradation en amino parathion non toxique et l'adsorption sur sédiments. La proportion parathion réduit est proportionnelle à l'ATP des boues (LAPLANCHE et al. 1981). Les eaux usées dans les zones urbaines représentent l'un des principales voies de contamination par les pesticides dans l'environnement (CAHILL et al. 2011). La présence de pesticides dans les stations d'épuration urbaines est principalement due aux utilisations non-agricoles de ces produits (KOCK-SCHULMEYER et al. 2013).

Deux cas de figure selon les polluants qui arrivent au niveau de la STEP :

- La **pollution primaire**, tels que des apports carbonatés, azotés ou phosphorés représente le gros des apports ;
- La **pollution secondaire**, de moindre importance car en concentrations relativement faibles mais à effets dangereux. Elle est soit d'origine organique, comme les perturbateurs endocriniens, soit d'origine minérale comme les métaux lourds (ALIGHARDASHI. 2007).

En termes d'épuration des eaux usées tout ce qui est organique est sujet à une digestion au niveau de la STEP. En conséquence des parties échappent au traitement et se retrouvent à la sortie de la station.

7-Les effets des pesticides sur la santé :

Bien que l'utilisation de pesticides dans les applications agricoles offre une vaste gamme d'effets bénéfiques aux rendements élevés pour subvenir aux besoins des populations de plus en plus importantes, leur utilisation extensive est devenue une préoccupation majeure en raison de leur danger potentiel pour tous les écosystèmes de l'environnement et leurs effets toxiques sur les êtres vivants dont les animaux, l'Homme et les écosystèmes en général. Alors que de nombreux pesticides sont toxiques seulement pour les espèces ciblées, beaucoup ne le sont pas, et sont aussi toxiques pour d'autres espèces non ciblées, y compris les humains (COSTA et ASCHNER. 2014).

La publication du « silent spring » (CARSON. 1962) et la définition pour la première fois du « dirty dozen » et les treize matières actives les plus impliquées dans des mortalités d'oiseaux pêcheurs a montré le revers de la médaille quant aux usages des pesticides. Leurs effets ont été largement étudiés et peuvent aller de la simple démangeaison à des effets de santé aigus ou retardés chez les personnes qui y sont exposées (U.S. Environmental Protection Agency. 2007) dont certains sont reconnus cancérogènes (US EPA. 2006). Des maladies comme le lymphome non hodgkinien et de leucémie ont montré des associations positives avec l'exposition aux pesticides (BASSIL et al. 2007

Les pesticides et les nitrates sont mis dans le collimateur comme produits à l'origine de multiples maladies, dont également, certains cancers (KNELLER et al. 1990, VAN LEEUWEN et al. 1999, BATSCH. 2011), via notamment la consommation d'eaux contenant ces produits. Les pesticides seraient la cause de troubles neurologiques, neurocomportementale et psychiatriques telles que l'anxiété, la dépression, les difficultés de concentration et des troubles de la mémoire (STEPHENS et al. 1995, VAN WENDEL et al. 2001, BATSCH. 2011). L'usage de produits chimiques, de pesticides, de produits de traitement pour les animaux en général et des phytosanitaires en particulier a suscité de nombreuses réactions. Dans ce sens de grandes préoccupations ont émergé très récemment suite à la disparition massive des abeilles aux USA et en Europe (BURKLE et al. 2013, PETTIS et DELAPLANE. 2010, TYLIANAKIS. 2013a et 2013b et KASIOTIS et al. 2014). Des produits phytosanitaires ont été mis en cause pour la mortalité des abeilles en Grèce et l'analyse des miels et du pollen ont révélés des concentrations significantes en pesticides (KASIOTIS et al 2014). L'homologation de ces produits, la posologie et la méthode de traitement, la période convenable et le point d'application, sont autant de complication du phénomène. Par exemple, des apiculteurs font usage de substances non homologués (cas du

Klarton au Maroc (appellation commerciale)), certains pratiquent des pulvérisations directes sur les rayons (méthode interdite) ou des traitements de façon répétée au hasard, hors ou pendant la miellée. C'est là une pratique qui élève dangereusement le taux de pesticides dans la denrée.

Les effets à long terme des pesticides et tous les perturbateurs endocriniens (ETM, pesticides et antibiotiques) pris tout à chacun ou pris ensembles sont à prendre au sérieux aussi bien, concentration qu'en leur accumulation sont soupçonnées à l'origine de bon nombre de maladies, gênes et malformations. Une « responsabilité partagée » du fabricant, du détenteur final du produit et du collecteur de déchets est nécessaire pour bien gérer ces produits dangereux avec des entreprises agréées pour la collecte, l'élimination par la destruction ou valorisation sans risque.

Les «Phyto-victimes», usager non conscients, existent dans tous les pays y compris ceux avancés, malgré une loi très stricte (JOUZEL et PRETE. 2014). Ces gens sont de plus en plus nombreux surtout dans les pays non développés où, assez souvent, l'ouvrier ne se protège même pas à l'usage des pesticides surtout liquides. Des études épidémiologiques ont montré des associations entre les pesticides organochlorés et le diabète (AZANDJEME et al. 2014, COX et al. 2007, GRAY et al. 2013, HECTORS et al. 2011, LEE et al. 2011a, PHILIBERT et al. 2009, RIGNELL-HYDBOM et al. 2009, RIGNELL-HYDBOM et al. 2007, SON et al. 2010, TURYK et al. 2009a, TURYK et al. 2009b, UKROPEC et al. 2010 et SHAPIRO et al. 2016).

8-Méthodes de propagation :

Les voies de passage de ces produits chimiques indésirables de leurs points d'application jusqu'au produit final sont nombreuses et complexes. Ils vont de la pulvérisation directe sur une matrice (ELZEN et al. 2000), au passage via l'air (GREATTI et al. 2003), via l'eau (GIROLAMI et al. 2009, VAN DIJK. 2010). Actuellement toutes les chaînes alimentaires sont traitées depuis la source de production jusqu'au consommateur.

9-Normalisation et commerce :

Dans beaucoup de pays des normes de concentrations des pesticides dans les aliments ont été établies. Les valeurs relevées de par le monde révèlent de grandes disparités. Les pesticides organophosphorés et acaricides sont les pesticides les plus couramment détectés dans les échantillons de miel (YUAN et al. 2014). Le coumaphos méthyle parathion et le fénitrothion sont les PO communément détectables dans les échantillons de miel (WANG et

al. 2011, YUAN et al. 2014). Cette problématique n'est pas sans incidences quant aux commerces internationaux et les contrôles de qualité, surtout que le produit miel est disponible en grandes crues dans certains pays (chine, Russie,...) et fait défaut dans d'autres, ce qui incite à la circulation de grosses quantités entre les frontières. Ainsi l'Union européenne (UE) a réglementé les LMR pour les trois acaricides couramment utilisés pour combattre le varroa : amitraz, coumaphos, et cyamizole, à 0,2, 0,1 et 1 mg kg/Kg respectivement (Commission Européenne. 1990, FARAG et al. 2015). Ces produits chimiques sont normalement soumis à une réglementation très stricte quant à leur annexations dans le catalogue des produits dangereux, la mise sur le marché, leur usage, leurs emballages, d'étiquetage, mesure de contrôle, protection de l'utilisateur, les conditions de préventions à prendre en considération tout au long de la chaîne de transport, l'usage et le post application et la prise en considération des écosystèmes. La notion de dose létale (DL50) longtemps prise en compte pour évaluer la toxicité d'un produit n'est plus d'usage actuellement. Elle est remplacée par un test d'effet sur des animaux, selon différents états du produit et son mode de prise expérimentale. Suite à cela, ils sont répartis en classes de dangerosité affectée par un symbole à l'étiquetage.

II-Les médicaments et antibiotiques en particulier :

1-Définition d'un antibiotique :

Un antibiotique est un composé de faible poids moléculaire dérivé de substances naturellement produites par des microorganismes pour attaquer et inhiber, en dilution élevée, la croissance d'autres micro-organismes (MEROLA et al. 2014), spécifiquement une bactérie ou un groupe de bactéries, et non les champignons et les virus, qui sont à l'origine d'infections dont certaines sont graves ou mortelles, Isolées autre fois à partir d'organismes de la nature. Aujourd'hui les antibiotiques sont soit microbien soit synthétiques ou d'origine semi-synthétique et l'isolement subséquent du composé par des chercheurs a ouvert de vastes horizons dans le domaine pharmaceutique. La pénicilline à elle seule a été utilisée à grande échelle et pendant longtemps dans les années suivant sa découverte jusqu'à une époque récente. Leurs modes d'action sont variés : Certains agissent sur la paroi ou la membrane des bactéries cibles provoquant ainsi leur destruction, d'autres vont agir au niveau de leur machinerie pour bloquer leur développement et leur survie et enfin, certains antibiotiques agissent directement au niveau de l'ADN pour empêcher leur division et leur prolifération.

2-Pollution des eaux par les antibiotiques :

La pollution des eaux par les médicaments en général et les antibiotiques en particulier, a été rapportée pour la première fois dans les années 70 aux Etats-Unis quand un lien de cause à effet a pu être établi entre l'éthinylestradiol (principe actif des pilules contraceptives) et la croissance des poissons de rivière. Depuis lors, plus de 150 produits pharmaceutiques de différentes classes thérapeutiques ont été détectés jusqu'au µg/L dans diverses matrices environnementales (DRAUW. « Institut Meurice, Bruxelles »). Pour donner un ordre de grandeur des quantités de ces produits dans un écosystème aquatique, Marc Bernard donne 111 produits pharmaceutiques et douze principes actifs ayant été détectés dans les eaux du Rhône en 2011 (MARC et al. 2011), un équivalent de 1010 Kg en 2010 contre 845 Kg en 2011.

Les substances nouvellement introduites dans les écosystèmes notamment aquatiques, entre autres, les produits pharmaceutiques, sont une composante d'intérêt environnemental croissant. Leur métabolisation est incomplète, ils restent munis de leurs principes actifs qui peuvent avoir des effets sur les biocénoses du milieu. Leur origine essentielle est les hôpitaux, les excréments humains urinaires et fécaux ou encore les résidus d'élevage incluant les traitements des animaux. Ces résidus ont largement envahi les milieux et se retrouvent en concentration significatives dans les STEP, leurs boues et dans les biocénoses côtières où elles sont bioaccumulées par les organismes marins. Ils échappent aux méthodes conventionnelles d'épuration dans les STEP et sont largement distribués dans les réseaux hydrologiques du fait des dispersions des populations. En effet si les rejets des villes sont en gros regroupés et acheminés vers des stations d'épuration, à la campagne les rejets sont éparpillés dans la nature, à l'image des habitats. Le risque d'intoxication est alors effectif et grand, notamment par la consommation des eaux d'amont en aval. Ceci est accentué dans les pays où il y a pénurie des eaux comme le cas du Maroc. Ces molécules sillonnent les réseaux hydrologiques et les mers depuis longtemps et n'ont été recherchés dans les différents compartiments environnementaux que récemment. La législation devrait prendre en considération ce phénomène nouveau.

Diverses méthodes de chimie analytique ont été élaborées afin de détecter les substances new émergentes dans le milieu aquatique et ses différentes composantes : effluents, eaux de surface, sédiments, boues et les êtres vivants (CREUSOT. 2011).

3-Les antibiotiques : un problème pour la dépollution des eaux :

Dans tous les cas, les eaux superficielles constituent la destination principale des résidus à des concentrations très variables selon les cas aboutissant à des STEP dans la périphérie des agglomérations.

Considérant les voies par lesquelles les antibiotiques entrent dans le milieu aquatique, les effluents des stations d'épuration et de traitement des eaux usées municipales ont été identifiés comme une émanation principale en raison de l'inefficacité de l'élimination des antibiotiques par les procédés de traitement conventionnels (LIU et al. 2015). Les eaux usées constituent donc un réservoir de bactéries résistantes aux antibiotiques (BAQUERO et al. 2008 et KUMMERE. 2009, MIDDLETON. et SALIERNO. 2013).

4- Procédés de traitements des antibiotiques dans les eaux usées :

Le traitement des médicaments contenus dans les eaux usées est peu efficace, tandis que le traitement par bioréacteurs à membranes donne des résultats meilleurs et la décomposition pour la majorité des produits pharmaceutiques. Le charbon actif permet de retenir la quasi-totalité des composés organiques y compris les médicaments si le temps de contact est suffisant pour les capter convenablement (DRAUW, Institut Meurice, absence référence), tandis que le couplage de la photocatalyse et d'un autre procédé est une méthode proposée pour la dégradation de certains de ces produits résiduels (FAURE. 2010). Le choix se fait en fonction de la fréquence et des quantités utilisées, de la toxicité et de la solubilité des composés. Les procédés d'oxydation avancée (POA) sont souvent employés pour la dégradation des polluants organiques réputés non/ou difficilement oxydables par des procédés chimiques ou biologiques conventionnels (ZAVISKA et al. 2009). L'oxydation sonochimique en est un mécanisme réactionnel par des ultrasons en milieu aqueux qui est de plus en plus utilisé en milieu industriel pour accélérer ou activer un mécanisme réactionnel. L'intérêt des ultrasons réside dans leur aspect non polluant et leur facilité d'automatisation. L'action directe induite par les ultrasons est également intéressante pour le traitement d'effluents industriels : les ultrasons peuvent avoir dans l'eau des effets biocides induits par ces phénomènes de cavitation qui brisent les cellules bactériennes (HUA et HOFFMAN. 1997, ZAVISKA et al. 2009). Dans le cas d'épuration des eaux par ce procédé, l'objectif primordial est de transformer des polluants en molécules à radicaux libres afin de faciliter ensuite leur dégradation. Résultat : Un taux de dégradation allant jusqu'à 100 % dépendant du POA

appliqué, du type de composé organique (hormones et dérivés hormonaux (ex : oestradiol), de pesticides (ex : atrazine), de colorants (ex : Orange G), etc. (ZAVISKA et al. 2009).

Un traitement aux rayonnements UV s'avère nécessaire après épuration d'une STEP, afin d'éliminer le restant de bactéries ayant survécu aux traitements et d'autres composés résiduels dont les médicaments. La concentration de ces derniers diminue entre l'entrée et la sortie. Ce procédé est particulièrement nécessaire avant le rejet dans des zones sensibles comme celles de baignade, ou d'autres périmètres de production de fruits de mer etc...

Dans les eaux de surface et les eaux à la sortie des STEP, les résidus médicamenteux les plus fréquents sont : les stimulants tels que la caféine et la théophylline, avec une fréquence moyenne de 32%, les analgésiques 21% et les β -bloquants 17% (VAN HOI. 2013).

Les fortes concentrations mesurées en aval des stations d'épuration, traduisent l'efficacité partielle de ces ouvrages quant à l'élimination de certains composés ou encore à «produire» des molécules actives à partir de molécules conjuguées non actives. De telles observations montrent l'importance de s'intéresser aux métabolites en tant que source potentielle d'effet comme la perturbation endocrine (FARRE et al. 2008, CREUSOT. 2011).

5-Les médicaments dans les eaux souterraines :

Les médicaments dans les eaux souterraines sont beaucoup moins fréquents, encore moins dans les eaux potables. Cependant 127 résidus de médicaments de différentes classes (hormones, AINS, β -bloquants, antibiotiques, analgésiques...) ont fait l'objet d'identification dans ce type d'eaux dans des zones spécialement impactées (VAN HOI. 2013).

Le sort de ces molécules, dans les milieux dépendra de plusieurs facteurs dont essentiellement :

- La sorption sur les matières solides (sol, sédiment, matières organique) dépend de la polarité de la molécule, des échanges ioniques, de la complexations avec des métaux. Tout ça sous le contrôle d'autres facteurs tel que le pH.

- La dégradation physico-chimique dont la photo-dégradation directe dans l'environnement).

Chapitre IV- Situation géographique de la région d'étude :

I-Localisation :

La Chaouia côtière est une immense meseta à l'extrême Nord-ouest du Maroc (Carte ci-dessous). C'est une plaine atlantique située entre Casablanca et el Jadida comme limites ouest et les rocailles de Rehamna à l'Est. Les contreforts de Khouribgua et Benslimane la limitent du Nord-est au Nord-ouest. Le climat y est semi-aride avec une saison chaude et sèche de 6 mois et une saison « humide » avec des irrégularités de précipitations. Elle a une vocation agricole en premier lieu, constituait autrefois un « grenier » non seulement pour le Maroc, mais aussi pour l'exportation du blé en Europe pendant les grandes guerres. Le sol y est généralement du type argileux-limoneux fertile, marron foncé avec une dalle calcaire dure assez proche de la surface, qui génère en profondeur deux aquifères : Un schisteux au NE et l'autre carbonaté au SW. Ces aquifères subissent l'action conjuguée de la sécheresse, la pollution et des prélèvements intenses par pompages destinés à l'irrigation de cultures maraîchères vivrières limitées et de fin de saison agricole (FAKIRET al. 2001). Ils servent aussi à l'alimentation de la population rurale en eau « potable » et pour abreuver le bétail. L'impact de ces pratiques s'est traduit par une diminution des réserves hydriques souterraines et par une augmentation de la salinité ; par conséquent, de nombreuses exploitations ont été abandonnées. A ces deux impacts s'ajoutent des pollutions ponctuelles et de plus en plus nombreuses et de dimensions importantes, essentiellement à Berrechid ouest, suite à l'extension de la ville et à l'installation d'un quartier industriel de grande envergure.

II-Le problème environnemental :

Depuis plusieurs décennies, cette plaine « Chaouia », reçoit des décharges d'eaux usées directement dans le milieu ambiant. Pendant longtemps ces effluents n'ont pas été épurés (Settat, Berrechid, Benhmed, Benslimane, El gara,..). Au niveau de la ville de Berrechid le problème prend de l'ampleur, car c'est la proximité du « grand Casablanca » où ont été déplacées toutes les activités et industries que celle-ci ne pouvait plus accueillir. Ainsi des effluents de diverses industries en plus des rejets domestiques, mixtes sont rejetés à l'air libre sur un terrain de pente très faible avec écoulement lent. Les eaux brutes diffusent dans la nappe phréatique qui se trouve ainsi contaminée. Or celle-ci est la source principale d'irrigation et d'alimentation en eau potable dans la région, essentiellement vers l'ouest. Le problème est d'autant plus grave qu'un sol contaminé par des eaux insalubres restera dans cet état pendant longtemps, et sa nature argileuse est d'une grande adsorption de métaux. En effet

les sols argileux en général sont plus attractifs des métaux par leur propriétés d'adsorption ce qui leur a valu des caractéristiques permettant de les utiliser comme des filtres notamment pour soustraire les métaux polluants des milieux liquides.

Il y a quelques années, heureusement, l'on a vu se multiplier les STEP au sein de la région « Chaouia-Ourdigha », récemment renommée région de « Casa-Settat » et ce grâce à la coopération internationale. Beaucoup de dégâts sont contrecarrés mais reste un défaut majeur, au niveau national, relatif au suivi, gestion adéquate et l'entretien des stations d'épuration. En effet de beaucoup de cas, le phénomène se résume à la mise en place d'un ouvrage d'épuration, parfois sophistiqué (cas de la STEP de Benslimane), après quoi la panne survient et dure.

III-L'agriculture de la Chaouia :

Les principales caractéristiques de l'agriculture dans la région Casablanca-Settat (ex région de la Chaouia-Ourdigha) sont très variées. D'abord, une population agricole attachée à l'exploitation traditionnelle : plus de 8 exploitants sur 10 (soit 84% exactement) résident sur place. Ensuite, une superficie agricole utile considérable : 13% de la superficie agricole utile nationale, soit environ 960.000 hectares. Celle-ci est répartie de façon inégale dans l'espace : 62% de la surface est concentrée dans la province de Settat avec des exploitations relativement étroites à cause de la parcellisation des terres (avec une moyenne unitaire qui oscille entre 7 et 12 ha dans 67% des communes rurales). L'irrigation est fortement limitée : elle ne couvre que 3% de la surface agricole utile, soit seulement 28.800 hectares. Enfin, la céréaliculture est prédominante, représentant 80% des cultures dans la région (HERRADI. 2016). La région ne manque cependant pas de ressources en eau. Les apports pluviométriques sont estimés à près de 7 milliards de mètres cubes par an. Le barrage Al Massira (35 km au sud-est de Settat) compte parmi les plus grands au Maroc et en Afrique avec une capacité de retenue de 2,8 milliards de mètres cubes. Mais la région ne profite pas de ce potentiel hydraulique en comparaison avec les autres régions (L'Economiste. 2012).



Fig N° 3. Carte du Maroc et situation de la zone d'étude.

Cette agriculture se base sur la production de blé depuis l'époque coloniale. En effet la région avait un intérêt colonial pour approvisionner une Europe affaiblie par les deux guerres mondiales. Une mécanisation générale n'a portant vu le jour que vers les années soixante-dix. Dans ce contexte, l'apiculture n'a pas de place, vu que les étendues agricoles sont complètement céréalières et utilisent les phytosanitaires qui viennent à bout des plantes sauvages mellifères et empoisonnent les abeilles. La présence de ruches restera un phénomène exceptionnel.

IV-La ville de Berrechide :

La ville de Berrechide avec 89.830 habitants est une ville moyenne au cœur de la Chaouia, dans l'arrière-pays de la première mégapole économique du pays qu'est Casablanca. Elle connaît depuis une trentaine d'années, une problématique environnementale préoccupante, du moins pour les gens du domaine. Le problème est d'autant plus grave que la ville a un caractère industriel très varié, implanté au cœur d'une vaste plaine fertile parmi les meilleures terres agricoles du Maroc.

Les 120 sociétés du quartier industriel ont des activités diverses : plaques de freins, fabrication de radiateurs, produits chimiques, production pharmaceutique, câblages, composants électriques, produits plastique, fabrication de structures métalliques, fonderie, optimisation de pièces, fabrication de gaz industriels et médicaux, couches pour bébés, le textile, agroalimentaires, produits chimiques pour aliments de bétail et d'autres activités comme les briqueteries,... Elles ont été implantées durant les années quatre-vingt, en un laps de temps record et avant même qu'une infrastructure de base, adéquate ait été réalisée : les voies d'accès, le réseau collecteur des eaux usées et surtout une station de traitement des effluents. L'ancienne station d'épuration des eaux domestiques est délaissée car archaïque et sa capacité est largement dépassée. Une nouvelle station a été conçue depuis quelques années, de type lagunage simple. De plus, la pente du terrain est quasi nulle, ce qui gêne donc le processus d'écoulement des eaux industrielles. Les usines ont alors créé chacune un bassin d'évacuation des siennes souvent à ciel ouvert et sans isolement vis-à-vis du de la percolation. Il y a souvent des trop-pleins de ces bassins ce qui provoque une inondation observable tant à l'entrée sud qu'au Nord de la ville. Les couleurs de ces bassins sont différentes selon le type d'industrie et dégagent des odeurs nauséabondes.

Certaines de ces activités peuvent être dangereuses par la nature de leurs rejets et par leurs émissions à l'air libre, sans traitement. Des industries génèrent des déchets métalliques toxiques dont les effets sont néfastes pour la faune, la flore, les eaux, les sols et la santé humaine. Beaucoup de ces substances sont connues comme bioaccumulables à effets durables. Certains ont des caractéristiques pour agir dans les processus physiologiques (GOULE et al. 2012). Les polluants métalliques plus particulièrement le Pb, Ni, Fe, Zn, Cu, Cd,... sont reconnus cancérigènes (HUI et al. 2010, DETMAR. 2002, ADRIANA et al. 2012, SHAM et al. 2015, HARTMIG et SCHWERDTLE. 2002), mutagenes (HARTMIG et SCHWERDTLE. 2002, Bérand et al. 2007), cytotoxiques (HFAIEDH et al. 2005, GORBEL et al 2002, GOULE et al. 2012), génotoxiques (KADMIRI et al. 2006, BERAND et al. 2007). Beaucoup de ces substances sont aussi connues comme bioaccumulables (KATEMO et al. 2010, KISSAO et al. 2008, TREMEL-SCHAUB et FEIX. (2005) à effets durables.

V- Le contenu des eaux de Berrechide en métaux lourds :

L'université est au cœur du développement des pays. La nôtre située justement au centre de la plaine de la Chaouia a laissé ses empreintes dans différents domaines. Cette région, jadis richissime par son agriculture, est contrainte de changer de vocation à cause des aléas climatiques, de la proximité du Grand Casablanca et de l'océan. Ce tournant dans la

nature des activités de la région, risque de générer beaucoup de problèmes économiques (improvisation, improductivité, chômage,...), sociaux (migration intense), environnementaux (morcellement des terrains, anarchie et dispersion des activités alternatives à l'agriculture, généralisation des pollutions, complication du réseau routier, nuisances,...).

De nombreuses études, notamment environnementales ont été entreprises dans la région, prioritairement celles relatives aux eaux usées. Ayant fait le constat de l'usage des eaux usées brutes dans l'irrigation, bien que limité à certains points, nous nous sommes intéressés aux conséquences que peut générer cette pratique, tant universelle qu'ancienne, sur la qualité des produits agricoles. En effet la diffusion de beaucoup de substances et les métaux toxiques est une atteinte à la santé humaine et animale. Aussi avons-nous suivi leur passage dans différentes matrices : dans la plante la plus fréquemment cultivée qu'est le maïs, le sol et aussi probablement dans le produit miel.

Des études des eaux usées ont été effectuées dans la région de Berrechide tant pour les eaux usées de surface (EL ASSLOUJ et al. 2007, BOUTAYEB et al. 2012) que pour les eaux de la nappe phréatique et leurs impacts sur la vie des populations (El BOUKDAOUI et al. 2008 et 2009, AÏT SLIMAN et al. 2010, EL KARIMA. 2010, KHOLTEI et al. 2003, ASSLOUJ et al. 2003, BOUTAYEB et al. 2012, EL ASSLOUJ et al. 2016, BOUTAYEB et al. 2014, AACHIB et al. 2016, EL GASMI et al. 2014).

Les résultats révèlent de fortes teneurs en ETM et la contamination de la nappe phréatique par l'Aluminium, le Chrome, le Mercure, le Plomb et le Zinc, vraisemblablement à partir de ces eaux usées brutes émises dans le milieu ambiant durant des décennies, mais aussi du lixiviat d'une énorme décharge non contrôlée.

B/ Matériel et méthodes :

Chapitre I. Recherche des ETM dans les sols, le maïs et le miel

I- Le choix des stations :

Durant plusieurs années et en attendant la réalisation de la nouvelle STEP, les eaux usées brutes de Berrechide étaient pompées et refoulées le long de la route nationale N9 allant vers Droua au Nord de l'agglomération. Elles longeaient la rive droite de la route et dégageaient une odeur suffocante. Certains paysans en profitaient alors pour irriguer spécialement le maïs en été.

Le choix des stations a été plutôt dicté par la présence sporadique de maïsiculture de la fin d'été et avons donc pris ces champs comme points d'échantillonnage (Fig 4 ci-dessous).



Fig N° 4. Image satellite de la zone de prélèvement des échantillons des sols et maïs (Nord-Est de Berrechide).

Les éléments traces métalliques les plus toxiques, ont été quantifiés (Pb, Ni, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, Cd) et leurs concentrations déterminées dans les trois. Le choix de des cinq éléments précédents a été fait parce qu'ils sont dangereux pour la santé et sont des composantes des activités industrielles présentes à Berrechide (KHOLTEI et al. 2003).

II- Les méthodes d'échantillonnages :

1-Echantillonnage des sols irrigués par les eaux usées :

Nous avons utilisé une tarière manuelle et avons procédé au prélèvement de deux horizons seulement : 20 cm et 40 cm à chaque fois, car une dalle calcaire est très proche de la surface empêche d'aller plus loin. Chaque échantillon est immédiatement mis dans un sac en plastique neuf et numérotés. De la même façon un sol irrigué à l'eau propre est pris pour échantillon témoin de référence.

2-L'échantillonnage de la plante maïs :

Des fragments du réseau racinaire, des feuilles et des épis ont été prélevés à partir des mêmes sites où le sol est irrigué par les eaux urbaines brutes et mises en sachets de plastique neufs et numérotés. Un maïs de référence, irrigué à l'eau de puits assez loin de la zone contaminée a été analysé pour une comparaison avec le précédent.

Pour le maïs témoin nous n'avons pas trouvé de plante au stade végétatif épi. L'épi témoin manque donc dans les analyses.

III-Préparation préanalytiques :

1-Préparation des sols :

1/ Sécher les échantillons 100° C à l'étuve, pendant 24 heures en vue de les broyer ;

2/ Broyer et tamiser les échantillons ;

3/ Peser précisément 150 mg d'échantillon dans un bécher téflon 30 ml ;

Il n'est pas nécessaire de peser, à chaque utilisation, le poids total à vide (bécher vide +bouchon), qui permettra de calculer le taux de dilution à la fin de la procédure ; il suffit d'enregistrer ces données lors de la première utilisation des béciers. L'expérience de plusieurs années montre que ces poids ne varient pas de manière significative.

4/ Ajouter 2 ml de HNO_3 concentré (70%), car on sait que la réaction peut être assez moussante sur des échantillons contenant des carbonates ou des sulfures. Laisser les béchers ouverts et porter à sec sur la plaque chauffante à environ 100 - 110°C.

5/ Ensuite deux autres procédures d'attaque à l'acide qui se font d'abord en nitrique, ensuite en chlorhydrique avec ajout à chaque fois de 2 ml de HNO_3 et le port de la plaque chauffante à 110°C.

2- Préparation du maïs :

-Des lambeaux de racines, limbe et d'épis sont mis à sécher 16 heures à 80°C pour le rendre broyable.

-Prélèvement de 2 g d'échantillon en capsule de platine, mise au four froid puis l'élévation de la température à 450°C pendant deux heures.

-Humecter les cendres par 2 à 3 ml d'eau et ajouter lentement 1 ml d'acide chlorhydrique concentré.

- Chauffer jusqu'à apparition des premières vapeurs, ajouter quelques ml d'eau.

- Filtrer sur filtre sans cendre, dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 ou 4 fois à l'eau tiède ;

-Incinerer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550°C au maximum ;

-Reprendre par 5 ml HF ;

- Aller à sec sur plaque chauffante ou bain-marie sans dépasser 100°C ;

-Reprendre par 1 ml de HCL concentré. Laver à l'eau tiède. Filtrer, amener à 100 ml et compléter au trait de jauge après refroidissement.

-Dosages des éléments par spectrométrie d'absorption atomique.

IV-Technique d'analyse des sols :

Nos analyses ont été réalisées par la technique ICP-AES au sein des laboratoires de l'Unité d'Assistance Technique pour la Recherche Scientifique (UTARS), au Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique de Rabat. Ce laboratoire a développé des techniques analytiques qui respectent les normes de qualité mondialement reconnues par une étiquette. Il utilise des normes de certification ISO 9001 : grâce à un modèle précis d'appareil Ain ICS à 1000 ppm Ultima 2 de JobinYvon.

Il peut analyser les traces majeures, mineures, dans tous les types de matrices (roches, sols, scories, verres, céramiques ...). Un logiciel ICP V5 / Windows 98 / NT est conçu pour optimiser la productivité en déroulant automatiquement la séquence des tâches requises pour une opération donnée. Enfin, une équation d'étalonnage (équations du premier degré) est utilisée pour différencier un élément d'un autre et un étalonnage d'un autre. L'étalonnage de l'instrument est effectué systématiquement avant chaque analyse. Elle dose la quasi-totalité des éléments simultanément à l'état des traces et ultra-traces (mg/L et µg/L).

Laquelle technique est caractérisé par :

- Vitesse d'analyse.
- Caractère multi-élémentaire.
- Précision.
- Combinaison des faibles limites de détection et une large gamme linéaire.

L'analyse a concerné huit éléments traces dans les échantillons de sols à savoir : le Cadmium, le Chrome, le Cuivre, le Fer, le Manganèse, le Nickel, le Plomb et le Zinc.

Procédure d'analyse chimique des sols :

Les échantillons ont été séchés à 100 ° C dans un four pendant 24 heures puis broyés puis tamisés. Ensuite 150 mg de sol ont été placés dans un bécher de 30 ml en téflon et 2 ml de HNO₃ concentré (70%) ont été ajoutés, car il est connu que la réaction peut être effervescente avec des échantillons contenant des carbonates ou des sulfures. Les béchers ont été laissés ouverts pour sécher sur une plaque chaude à environ 100 - 110 °C. Enfin, deux autres procédures de gravure à l'acide sont effectuées, d'abord avec de l'acide nitrique, puis avec l'acide chlorhydrique. 2 ml de HNO₃ ajoutés à chaque fois et élévation de la plaque chauffante à 110 °C.

C/ Résultats et discussions

I-Résultats des analyses des sols et du maïs :

1-Les ETM dans les sols :

D'habitude et naturellement un sol est l'image de la roche mère dont il est issu, notamment en ce qui concerne la composition chimiques en ions métalliques : C'est le fond pédogéochimique. D'où l'utilité de déterminer les concentrations existantes de nature dans le sol témoin. Les résultats des analyses sont inclus dans les tableaux suivants :

Tableau N° 4. Concentrations des ETM dans la matrice sol et maïs témoins (mg/Kg).

	Cd	Cr	Cu	Fe	Pb	Mn	Ni	Zn
Sol témoin	0.01	2.2	4.48	13.48	2.69	2.29	2.69	6.1
Feuille de maïs	0.006	0.018	0.16	9.23	0.24	0.040	0.008	1.5
Racine de Maïs	0.014	0.042	0.20	19.35	0.60	0.080	0.012	3.1

Dans les argiles, il y a une fraction importante des ETM du sol dans la « phase argileuse » inclus dans les réseaux silicatés sous une forme très peu disponible, ou encore adsorbés à la périphérie des argiles (feuillets de silicates d'alumine).

Tableau N° 5. Eléments traces dans les sols de surface (mg /kg).

Elément :	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
Station :								
St1	0.25	42.67	0.25	18688.77	356.35	19.06	61.85	30.67
St2	2.68	29.10	0.22	12482.75	289.36	10.04	45.16	32.89
St3	0.34	69.55	0.34	25281.28	530.56	26.49	97.74	53.65
St4	0.42	40.71	0.42	16770.99	307.95	21.33	57.43	28.72
St5	0.27	32.41	0.27	14034.04	273.55	27.74	54.68	47.61
St6	0.33	24.01	2.30	9374.09	186.48	23.35	35.61	48.52
St7	0.30	29.46	5.48	11210.92	248.14	14.51	39.09	30.94
St8	0.25	44.64	3.71	18078.46	315.81	24.36	70.98	69.12
St9	0.46	42.92	0.31	16082.55	370.80	25.88	54.39	35.02
St10	0.22	31.73	0.22	13523.51	262.45	14.13	46.64	22.76

Ces concentrations reflètent certainement le degré d'usage de chaque métal dans la vie courante, à l'origine des rejets dans la région.

Certaines concentrations dont celles de Fe et Mn sont assez élevées. Ces deux éléments sont, en général, conjointement présents en concentrations élevées dans des sols colorés. Ils le sont d'autant que la matrice ici est d'une couleur marron foncé. Le Fer est considéré comme un élément « banal » étant donné sa présence est massive, n'ayant pas fait ni l'objet de « valeur limite » de concentration admises ni une prise en compte dans les calculs d'indices de pollutions.

Les métaux les plus abondamment présents sont ceux émanant des traitements de surfaces, des chaudronneries et des plomberies (Fe, Pb, Zn) ou probablement d'origine chimique ou pharmaceutique (Fe, Mn, Zn, Cr, Ni). Ces concentrations des métaux seraient augmentées par la présence de fertilisants N.P.K. (cas du Cd, par exemple) ou diminuées (cas de l'Hg) selon l'élément en question (CARBONELL et al. 2011). La ville de Berrechide émettrice de ces eaux est bien placée pour pourvoir ces eaux en différents métaux précités, vu les activités qu'elle abrite.

Tableau N° 6. Eléments traces dans le sol 20 cm de profondeur (mg /kg).

Elément : Station	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
St1	0.23	54.96	11.74	24277.86	362.67	20.22	80.18	45.44
St2	0.24	47.12	0.28	20000.37	359.07	18.26	73.51	29.92
St3	0.24	46.42	0.24	19085.07	300.11	20.31	69.45	26.93
St4	0.34	53.68	11.63	21323.63	410.83	28.72	72.32	44.79
St5	0.32	40.78	0.32	16557.59	340.86	23.17	59.03	43.48
St6	0.33	31.26	3.84	12910.35	273.30	15.04	43.96	41.29
St7	6.58	54.17	0.35	22199.57	473.99	20.94	75.97	39.98
St8	0.78	49.10	0.26	19765.42	353.36	20.06	74.37	75.41
St9	0.34	48.07	0.34	17411.54	411.17	25.74	62.39	42.28
St10	0.39	52.36	8.14	18254.81	367.92	29.60	62.05	46.80

Dans l'ensemble les concentrations demeurent trop élevées par rapport aux valeurs limites et à d'autres cas d'études similaires. Il y a une certaine proportionnalité des teneurs en concentrations entre celles de surface et celles de la profondeur de 20 cm. Nous observons cependant une tendance à une légère accumulation en surface dans la plupart des cas. Il ne

faudrait pas négliger la différence de température entre la surface du sol et celle de différentes profondeurs et qui a une influence certaine sur les réactions chimiques et sur la rétention des métaux spécialement par temps très chaud, ce qui est le cas ici. Les sols argileux sont acides par excellence et ont une action sur la disponibilité et l'absorption en général et sur celle des métaux lourds en particulier (LUO et al. 2011). A ne pas négliger le caractère plastique des sols argileux, qui une fois saturés en eau deviennent imperméables. Ceci favorise alors l'évapotranspiration plutôt que l'infiltration ce qui donne lieu à des culots concentrés au niveau de la surface du sol. Le maïs est justement une plante à racines superficielles.

2-Les ETM dans la « matrice » maïs :

Les plants de maïs ont été plusieurs fois, durant leur cycle biologique, arrosés par des eaux usées brutes et sur un sol argileux rouge. Il est donc intéressant de voir la répartition des ions le long de la plante. Trois parties de la plante ont été analysées : la racine, le limbe foliaire et une partie de l'épi.

Résultat des analyses :

Tableau N° 7. Concentration des éléments traces dans les feuilles de maïs (mg /kg).

Elément : Station :	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
St1	0.34	17.37	0.34	6879.96	144.41	13.62	20.44	22.65
St2	0.32	13.92	0.32	1425.67	193.02	20.73	12.18	30.38
St3	0.30	7.83	6.62	750.73	80.24	4.22	5.12	39.74
St4	0.31	9.62	29.46	2939.75	61.97	9.16	9.77	89.59
St5	0.34	9.99	9.48	2483.38	167.84	21.51	5.42	41.66
St6	0.32	9.93	49.65	369.16	34.59	40.20	10.41	93.69
St7	0.33	9.69	18.88	351.04	96.53	85.67	7.18	183.4
St8	0.27	4.50	24.29	413.35	51.86	6.00	4.50	61.00
St9	0.29	13.78	15.64	404.66	123.4	11.91	8.04	56.82
St10	0.31	2.63	0.31	112.58	32.74	1.70	3.40	53.74
Moyenne	0.31	9.92	32.4	1613.02	98.66	21.47	8.64	67.26

A priori ces concentrations des métaux sont, en général, trop élevées du moins par rapport à celles trouvées, dans des conditions identiques, entre autres, chez des plantes médicinales en Afrique du Sud (OLOWOYO et al. 2011). En les comparant avec celles des autres organes de la plante, elles sont élevées sauf pour le Fe et le Ni. Ce même cas a été constaté ailleurs pour d'autres plantes (LUO et al. 2011). Cette accumulation des métaux dans

les sommités, ici épi, mais également les racines d'un végétal dépend à la fois de leurs teneurs dans le sol et du génome du végétal (TIWARI et al. 2011). Les doses sont excessivement élevées dans tous les organes de la plante avec le Fe et le Mn en tête. Des éléments, de moindre valeur mais plus dangereux que ces précédents (Pb, Cd, Cr et Cu) sont fortement présents. Le Cd est à peu près de mêmes concentrations dans le sol et la feuille de maïs alors que le Cu est plus significatif dans la plante que le sol.

Le mécanisme de fixation des métaux lourds et d'autres minéraux est basé sur la coordination et la disponibilité des groupes moléculaires fonctionnels présents au niveau des surfaces membranaires biologiques (NURCHI et al 2010). Plusieurs de ces groupes sont d'ailleurs identifiés et connus dont les radicaux PO_4 , COO et NH_2 et sont utilisés pour soustraire les minéraux à partir des eaux usées (épuration biologique). Le phénomène est en fait assez complexe et d'autres paramètres, dont le pH, ont une influence.

Tableau N° 8. Concentrations des éléments traces dans les épis de maïs (mg/kg).

Eléments : Stations :	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
St1	0.34	40.96	9.95	570.76	248.63	47.70	7.25	68.27
St2	0.25	35.56	31.05	133.86	9.54	5.47	6.87	60.57
St3	0.23	29.15	78.11	392.16	61.18	15.12	5.03	59.22
St4	0.29	30.14	70.30	300.14	62.32	21.14	6.30	44.96
St5	0.27	31.11	86.43	250.51	27.66	16.22	2.13	41.69
St6	0.28	5.50	18.29	472.83	52.67	29.43	6.60	55.29
St7	0.30	8.24	0.45	1298.35	182.12	18.29	10.64	32.68
St8	0.30	12.65	0.15	508.32	52.10	14.00	8.13	44.57
St9	0.31	5.38	8.92	590.31	289.16	3.84	4.00	48.58
St10	0.31	2.63	0.31	112.58	32.74	1.70	3.40	53.74

Les concentrations au niveau des fruits sont souvent moindres qu'au niveau des feuilles (sauf le Cr et le Cu). Il y a plus de Cu dans les épis, rappelant une bioconcentration. En effet, les épis étant les derniers tissus formés avant maturation, ce qui fait penser à une double hypothèse : soit il y a vraiment concentration par prédilection des tissus fruitiers (épis), soit que le végétal arrive à terme au moment où la sève est enrichie en concentration par la simple évapotranspiration. Ceci est d'autant vrai dans notre cas que la croissance du maïs se fait par saison de forte chaleur (plante à fortement héliophile). Les métaux lourds sont connus comme

étant non biodégradables, s'accumulent dans les divers tissus végétaux et peuvent provoquer des désordres, déformations ou même la mortalité (NGAH et HANAFIAN. 2007). Ce n'est pas le cas dans notre étude : les plans de maïs se portent bien et sont d'une grande taille sans déformations ni nécroses.

Tableau N° 9. Concentration des éléments traces dans les racines de maïs (mg/kg).

Eléments Station	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
St1	1.99	75.84	0.33	30585.18	510.83	37.84	104.06	44.81
St2	0.29	5.01	0.29	1191.48	74.55	10.02	5.44	17.60
St3	0.25	6.03	0.22	1081.48	64.35	9.15	4.31	15.50
St4	0.26	6.24	0.26	475.34	9.62	4.94	0.65	17.68
St5	0.28	6.91	0.28	2177.78	63.27	9.67	5.94	20.03
St6	0.29	3.34	0.29	1734.20	21.94	4.65	3.92	28.19
St7	0.25	5.80	0.25	1614.73	46.29	10.09	4.67	29.77
St8	80.29	9.88	0.29	2345.05	43.30	5.23	5.38	47.66
St9	0.33	11.39	0.31	2131.65	66.32	16.38	6.87	34.48
St10	0.30	3.62	0.30	1127.30	94.97	4.83	4.38	57.23

Au niveau des racines, il y a des disparités de concentrations d'un minéral à un autre. Les éléments (Cd et Cu) sont, à peu près, d'une égale présence de part et d'autre des parois racinaires (coté sol et coté intérieur des cellules). D'autres éléments (Fe, Mn, Ni et Pb), sont plus présents dans le sol de surface dans lequel évoluent les racines, que dans le tissu de ces organes. Dans tous les cas de figure, il n'y a jamais plus de concentration d'un élément dans les racines par rapport au sol de leur entourage (OLOWOYO et al. 2011), rapporte que les racines, contiennent en générale, plus de métaux que les tiges et feuilles. En fait les concentrations des métaux dans le sol, n'influent pas nécessairement sur les taux de leur absorption par le végétal. D'autres facteurs ont un effet significatif sur leurs disponibilités et leurs capacités à se déplacer. J'en cite principalement : la qualité d'adsorption du sol, le pH,... A ne pas oublier que les racines sont l'unique partie de la plante qui est enfuie dans le sol à l'abri de la chaleur. Ceci peut rendre localement, grâce à des températures biologiquement favorables, le transfère trans-membranaire facile menant à des concentrations intracellulaires élevée. A noter qu'en conditions de stress métallique, l'une des caractéristiques remarquables de certains végétaux supérieurs est leur aptitude à concentrer l'excès de métaux absorbés au niveau de certains organes, notamment à l'intérieur de la cellule où ce surplus peut faire l'objet d'une association avec des ligands organiques afin de les maintenir à un niveau

d'activité particulièrement bas dans le cytosol. (AMMAR et al. 2008, HART et al. 2002, HARDIMAN et al. 1984, SBARTAI et al. 2012)

Ces éléments métalliques absorbés et transportés par le xylème vers les feuilles où ils seront également assimilés ou accumulés en vue d'une chute régulatrice de concentrations et/ou redistribués vers les organes reproductifs ou végétatifs jeunes y compris vers les racines (CATALDO et al. 1987, DJEBALI et al. 2002, YOUNG et al. 2009, SBARTAI et al. 2012). C'est là une des éventualités qui expliqueraient des concentrations particulièrement élevées des métaux au niveau des racines.

3-Interprétation des résultats :

3-1-Cas des sols :

3-1-1-Contenu en ETM :

Un premier aperçu montre déjà des valeurs nettement trop élevées surtout qu'elles sont exprimées en mg/kg. Celles du Fer et du Manganèse le sont encore davantage. Ces deux éléments, selon la littérature, sont associés en valeur assez élevées surtout dans des sols de teinte foncée. Ces teneurs élevées semblent normales quant aux fréquences d'irrigations, par gravité, et avec une eau brute. Pendant les saisons chaudes et durant plusieurs années il y a une rétention cumulée. En effet, suite à plusieurs décennies de sécheresse l'usage de l'eau insalubre a été courant, ce qui a dû apporter de plus en plus de concentrations chaque année. En outre, étant donné les usages multiples de ces minéraux dans toutes les industries et en pharmacothérapie, le Fer est fortement présent. Le Plomb, Zinc, Chrome et Nickel sont aussi non négligeables alors que le Cadmium reste le moins représenté de toute la gamme.

Quant à l'adsorption de ces éléments par le sol, il y a une nette élévation des quantités en profondeur par rapport la surface. Ceci est compatible avec les bibliographies dans le domaine, du fait de la mobilité des éléments notamment suite aux précipitations qui les drainent en profondeur. En outre, étant donné que les sols argileux sont connus comme ayant un caractère acide, l'échange et l'absorption des métaux sont élevés par ce pH (PARK et al.2011). De même qu'à une valeur du pH, les concentrations en métaux varient d'un sol à un autre (NABULO et al. 2010).

3-2-Réglementations et normes (Françaises) :

3-2-1-Normes Françaises fixes pour les sols :

L'ordonnance « Sols » prévoit deux types de normes fixes : normes d'intervention et normes d'assainissement. Ces deux normes sont reprises dans l'arrêté du 8 octobre 2015 (M.B. 09/02/2015).

3-2-2-Normes d'intervention :

Ce sont des concentrations en polluants du sol et de l'eau souterraine au-delà desquelles les risques pour la santé humaine et/ou pour l'environnement sont considérés comme non négligeables et un traitement de la pollution est requis. Concrètement, ce sont des normes au-delà desquelles une étude détaillée doit être effectuée lorsqu'un sol ne respectait pas (ou n'était pas sensé respecter) les normes d'assainissement.

3-2-3-Normes d'assainissement :

Ce sont des concentrations en polluants du sol et de l'eau souterraine sous lesquelles les risques pour la santé humaine et pour l'environnement sont considérés comme nuls, et qui permettent au sol de remplir toutes les fonctions.

3-3-Calcul de l'Indice de Pollution (IP) des sols :

Un indice de pollution est défini par Chon (1998) comme étant la moyenne des rapports des concentrations en métaux dans les échantillons de sol par rapport aux valeurs limites.

Souvent les concentrations en fer ne sont pas prises en compte car c'est un élément qui est considéré comme étant «banal », puisque très abondant dans les sols bruns et peut y atteindre des valeurs excessivement élevées selon la littérature.

Deux stations seront prises pour exemple, la st1 et la st10, par rapport aux 7 éléments cités dans tableau du sol de surface. Le Fer n'étant pas pris en compte (L'IP, par rapport à des valeurs limites françaises, donnerait une valeur inférieure à un, ce qui correspondrait à des sols non pollués par rapport aux sols français).

L'indice de pollution (IP) calculé pour les stations 1 et 10, pour les sols de surface mais avec les valeurs témoins de nos sols sans tenir compte de Fer (Ce minéral est très répandu et n'est pas pris en compte dans ce genre d'analyses) :

$$IP (St1)=(0.25/0.01+42.67/2.2+0.25/4.48+365.35/2.29+19.06/2.29+61.85/2.29+30.67/6.1)/7$$

$$= (2.5+19.39+0.25+159.541+8.32+27.00+5.02)/7=31.71$$

$$IP(St10)= (0.22/0.01+31.73/2.2+0.22/4.48+262.45/2.29+14.13/2.69+46.64/2.69+22.76/6.1)/7$$

$$IP(St10)=(22+14.42+0.049+114.60+5.25+20.36+3.73)/7=25.77$$

Les valeurs de L'Indice de Pollution, calculées pour les stations 1 et 10 (à titre d'exemple), par rapport à nos témoins, sont très largement supérieures à un, ce qui correspond des valeurs pour des sols très pollués, ceci est normal en comparant matrice souillée/matrice naturelle.

II- Résultats des analyses du maïs :

1-ETM dans le maïs :

D'un point de vue assimilation des métaux par les différents tissus des plantes (dans notre cas c'est la plante maïs), il y a des disparités d'absorption par rapport à un même élément et entre les éléments comparés entre eux. Ceci est également normal d'un point de vue physiologique vu le besoin en ions des différents tissus. Seul le Cadmium semble avoir des valeurs rapprochées et stables tant vis-à-vis des horizons pédologiques que des tissus végétaux. Il est un élément habituellement peu manipulé ce qui signifie que sa présence ici est incontestablement d'origine industrielle.

Les plantes de maïs en question, paraissent morphologiquement normales et sans aucun symptôme de chlorose ou d'une quelconque anomalie, contrairement à ce qui a été cité dans certains cas (PARK et al. 2011). Les taux de métaux accumulés par les plantes ne sont pas directement toxiques : une partie serait normalement évacuée par le système de désintoxication, le juste nécessaire participe au métabolisme (RAINBOW et LUOMA. 2011).

2-Les recommandations de la FAO/OMS pour la qualité et les souillures du maïs :

Selon le Codex Standard 153-1985 Adopté 1985. Révision 1995. Normes codex pour le maïs :

2-1-Champ d'application :

La présente norme s'applique au maïs destiné à la consommation humaine directe, c'est-à-dire prêt à son emploi prévu comme denrée alimentaire et se présentant sous emballage ou vendu en vrac directement de l'emballage au consommateur. Les dispositions spécifiées dans la présente norme s'appliquent au maïs égrené en grains entiers, *Zea mays*

indentata L. et/ou au maïs corné égrené, *Zea mays indurata* L., ou leurs hybrides. Elle ne s'applique pas au maïs transformé.

2-2-Définition du produit/ Facteurs de qualité – critères généraux :

- Le maïs devra être sain, propre à la consommation humaine et de qualité alimentaire.
- Les grains égrenés de maïs ;
- Le maïs devra être exempt d'odeurs et de goûts anormaux ainsi que d'insectes vivants ;
- Le maïs devra être exempt de souillures en quantités susceptibles de présenter un risque pour la santé.
- Métaux lourds :

Le maïs doit être exempt de métaux lourds en quantité susceptibles de présenter des risques pour la santé humaine.

Les valeurs limites des ETM en mg/Kg dans grains de maïs selon la norme Française sont de 0.013 pour le Cd, 0.070 pour le Pb, 1.2 pour le Cu et 21.10 pour le Zn.

2-3-Conclusion :

Ces recommandations ne sont pas respectées dans le cas de figure qu'est le nôtre, du moins, en ce qui concerne la teneur en ETM. Une quantité de souillure qui est élevée ce qui exclut normalement toute consommation ou commercialisation de cette denrée.

3-Analyse Factorielle des données relatives aux sols :

L'Analyse Factorielle Multivariante (AFC) est une méthode de projection de mesures de grande dimension dans un plan de moindre dimension en vue d'en extrapoler une signification élevée. Pour chercher s'il y a ségrégation(s) ou ressemblances possible(s) entre les stations relativement à des mesures (données quantitatives) semblables ou différentielles on utilise une analyse en composantes principales (ACP). Seuls les résultats utiles pour argumenter ou interpréter sont pris en compte.

En survolant tous les tableaux, on constate que les données qu'ils contiennent ne sont pas de même ordre de grandeur. Ce qui renvoie obligatoirement à extraire les composantes principales à partir des matrices de corrélation.

1/Analyse ACP relative aux données du tableau des éléments traces dans les sols de surface (mg /kg) :

Tableau N° 10. Matrice des composantes (sol de surface).

	Composante		
	1	2	3
Pb	,977	-,072	,138
Cr	,971	-,125	,072
Fe	,963	-,185	,029
Mn	,916	-,322	,077
Ni	,646	,536	-,321
Cu	-,288	,685	,470
Cd	-,320	-,658	,576
Zn	,498	,616	,451

Ces variables sont corrélées entre elles. En effet, les corrélations deux à deux appuient ce constat (Tableau N°11 suivant).

Tableau N° 11. Matrice de corrélation (sols de surface).

Matrice de corrélation								
	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1,000	-,239	-,231	-,226	-,068	-,585	-,213	-,187
Cr	-,239	1,000	-,250	,977	,965	,482	,969	,369
Cu	-,231	-,250	1,000	-,333	-,370	-,124	-,257	,295
Fe	-,226	,977	-,333	1,000	,945	,445	,975	,330
Mn	-,068	,965	-,370	,945	1,000	,370	,914	,224
Ni	-,585	,482	-,124	,445	,370	1,000	,509	,630
Pb	-,213	,969	-,257	,975	,914	,509	1,000	,498
Zn	-,187	,369	,295	,330	,224	,630	,498	1,000

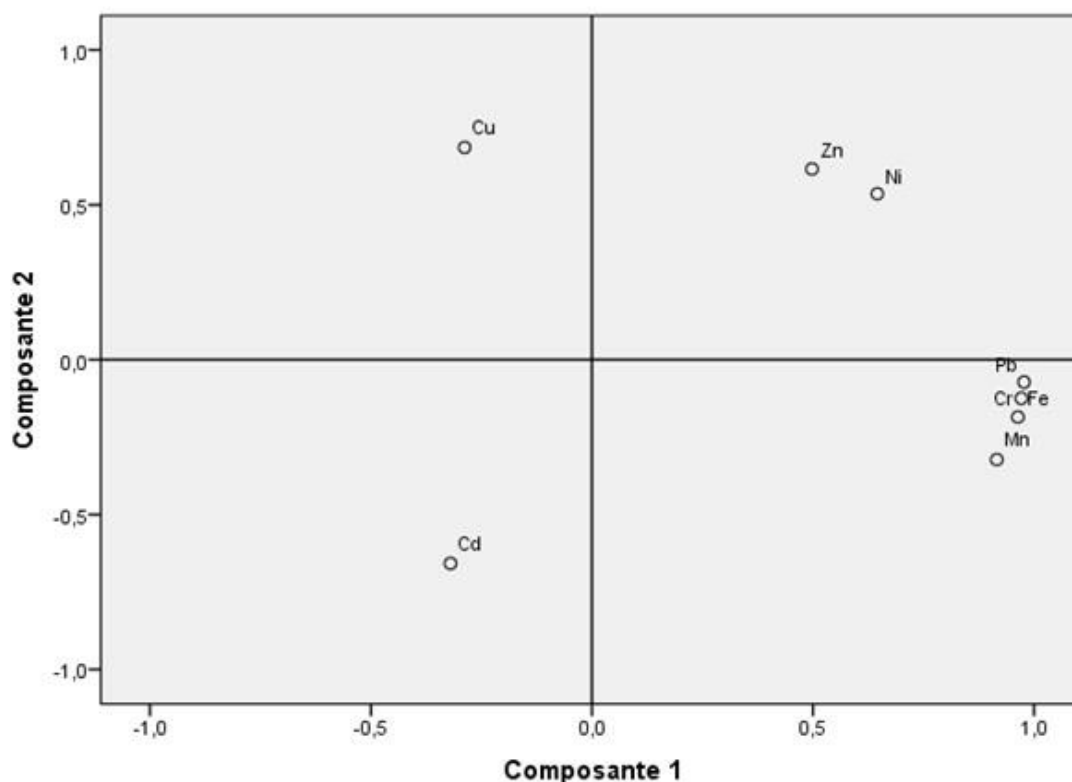


Fig N° 5. Répartition des ETM selon les composantes 1 et 2 relative aux sols de surface.

La fig 5 ci-dessus, visualise la répartition des éléments traces dans les sols de surface, sur le plan des composantes 1 et 2. La première constatation est que les variables Pb, Fe, Cr et Mn sont regroupées ensemble, se situent à proximité de l'axe horizontal et se situent à proximité de la périphérie du cadre (r tend vers 1). Enseignement :

- Ces variables sont fortement et positivement corrélées à la première composante principale c'est-à-dire contribuent fortement à sa construction. Ce constat est argumenté par la valeur des coefficients, qui ne sont que des coefficients de corrélation, de ces variables dans la structure de la composante principale 1 (Tableaux 10 et 11 ci-dessus). Ils tendent vers 1.

La projection des stations sur le plan factoriel FAC1XFAC2 (voir fig 6 ci-dessous) permet de faire les constatations suivantes :

- Les stations st1, st4 et st9 se positionnent près de l'intersection des axes passant par l'abscisse et l'ordonnée 0. Rappelons que cette intersection est la projection, sur le plan FAC1XFAC2, du centre de gravité du nuage des stations dans l'espace à 8 dimensions (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb et Zn). Dans un langage simplifié, ce point d'intersection est une station fictive dont les caractéristiques sont les valeurs moyennes des éléments traces. De là

on conclue que st1, st4 et st9 se ressemblent par le fait que les valeurs de certaines de leurs caractéristiques ne s'éloignent pas des valeurs moyennes. Les premières auxquelles il faut s'intéresser sont les éléments traces qui contribuent le plus à la construction des composantes principales 1 et 2, à savoir Pb, Cr, Fe et Mn d'une part et Cu et Cd d'autre part. En effet, on examinant le tableau 14, donnant pour chaque station l'écart à la moyenne rapporté à l'écart-type, on remarque que les valeurs prises par ce ratio confirment ce constat. On peut, dans une moindre mesure, ajouter les stations 5 et 10 à ce groupe.

- Le deuxième constat qui s'impose est celui relatif à la station st3. Sa position sur le graphique montre bien qu'elle prend une grande valeur sur le premier axe factoriel. En examinant le tableau 12, on voit bien que pour les éléments traces Pb, Cr, Fe et Mn, l'écart à la moyenne que prend cette station est plus que le double de l'écart-type. Les données brutes confirment aussi ce constat. Les valeurs prises par cette station pour ces éléments traces sont les plus grandes par-rapport aux autres stations. De là on peut conclure que la station st3 ne ressemble pas du tout à aucune des autres stations.

- L'isolement des st2 et st8 se justifie par les valeurs qu'elles ont pour les éléments traces Cd et Zn respectivement. En effet, la valeur de la trace Cd mesurée au niveau de la station 2 dépasse de loin les autres stations. Son écart à la moyenne fait presque le triple de l'écart-type (Tableau 12). Le niveau de cette trace à fortement élevé la moyenne jusqu'à un niveau qui dépasse toutes les autres stations. L'écart à la moyenne qu'à la station 8 pour l'élément trace Zn fait le double de l'écart-type.

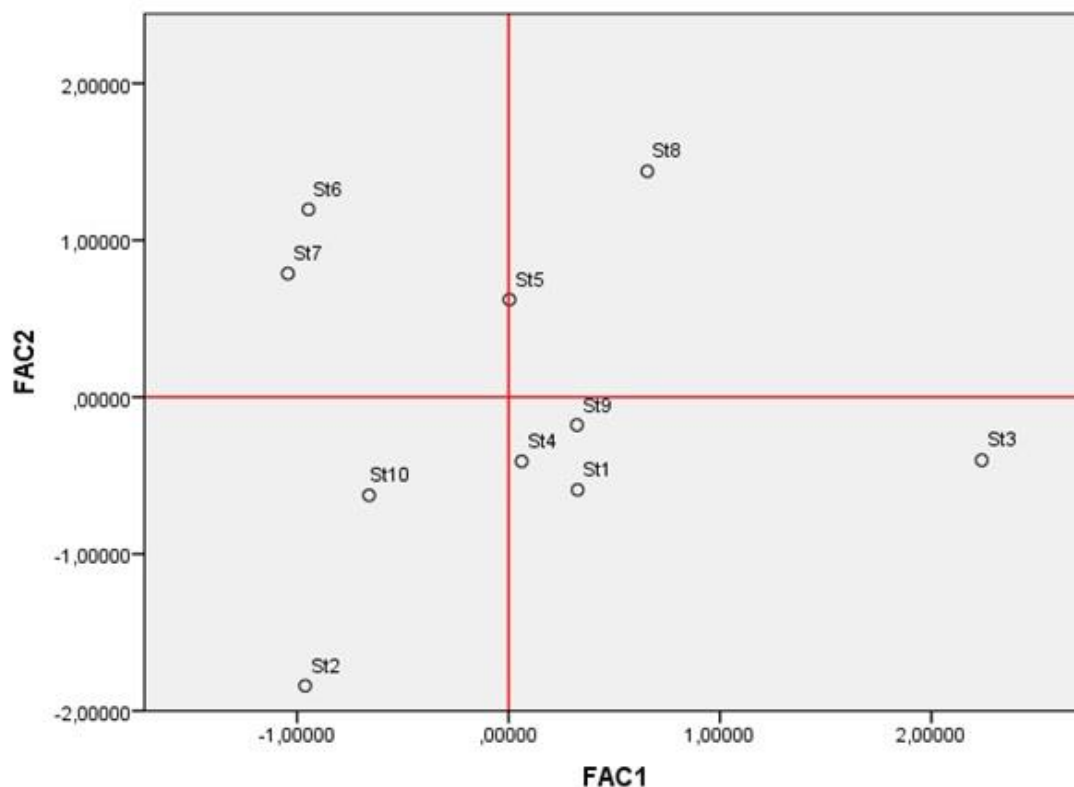


Fig N° 6. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2 (Données des éléments métalliques des sols de surface).

Il faut toutefois rappeler que le plan factoriel ci-dessus explique 78% de la variance totale des données.

2/Analyse des données (relatives au tableau 8), des éléments traces dans le sol à 20 cm de profondeur (mg /kg) :

La Fig 7 ci-dessous, visualise les éléments traces, dans les 20 cm de profondeur du sol, sur le plan des composantes principales 1 et 2 extraites à partir de la matrice de corrélation. Cette figure permet de dégager les observations suivantes :

- Les éléments traces Cr, Fe, Pb et Mn contribuent fortement, comme pour les sols de surface, à la construction de la première composante principale. Ceci peut être facilement vérifié sur le tableau 12 de matrices des composantes. En effet, on y voit que les coefficients de ces éléments traces, qui sont aussi des corrélations, dans la première composante dépassent 0.8 (la valeur du coefficient de Cr tend vers la valeur 1).

- Leur position cote à cote se justifie par la corrélation deux à deux qui existe entre eux (voir Fig 7).
- Les éléments traces Cd et Cu contribuent de manière opposée à la composante principale 2. Les observations ci-dessus vont aider à mieux comprendre les projections qu'ont les stations st1—st10 sur le plan factoriel FAC1XFAC2 (Fig 7 ci-dessous).

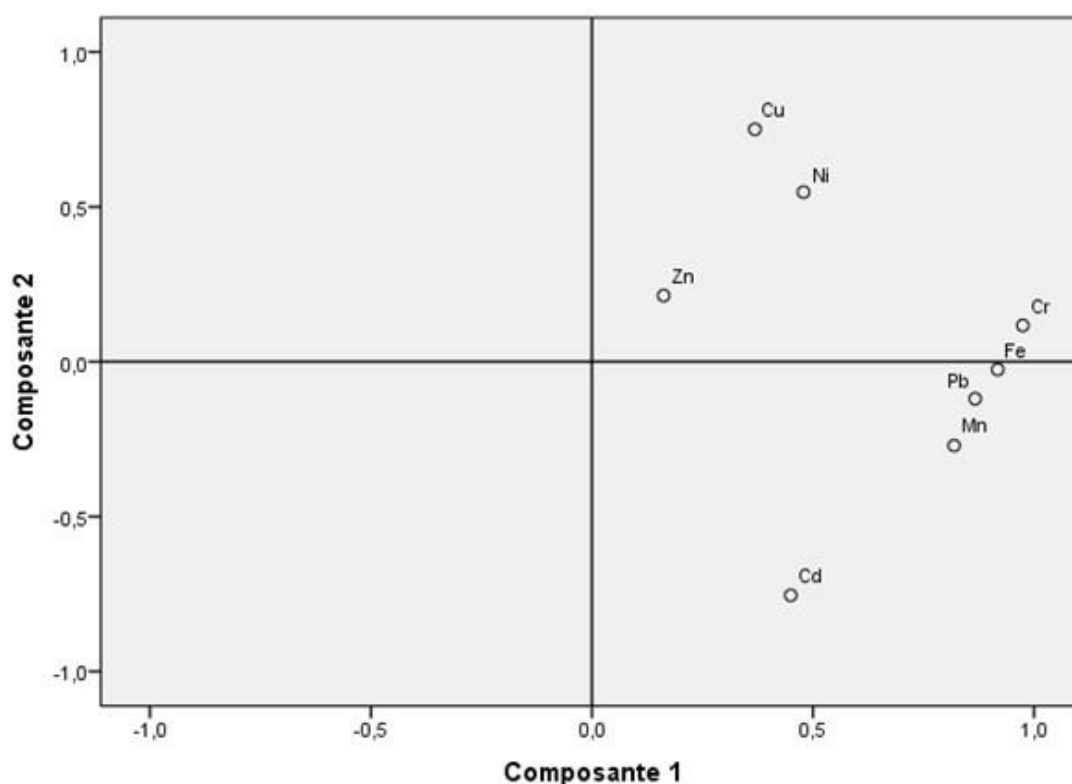


Fig N° 7. Repartition, selon composantes 1 et 2, des éléments traces métalliques dans le sol à 20 cm de profondeur.

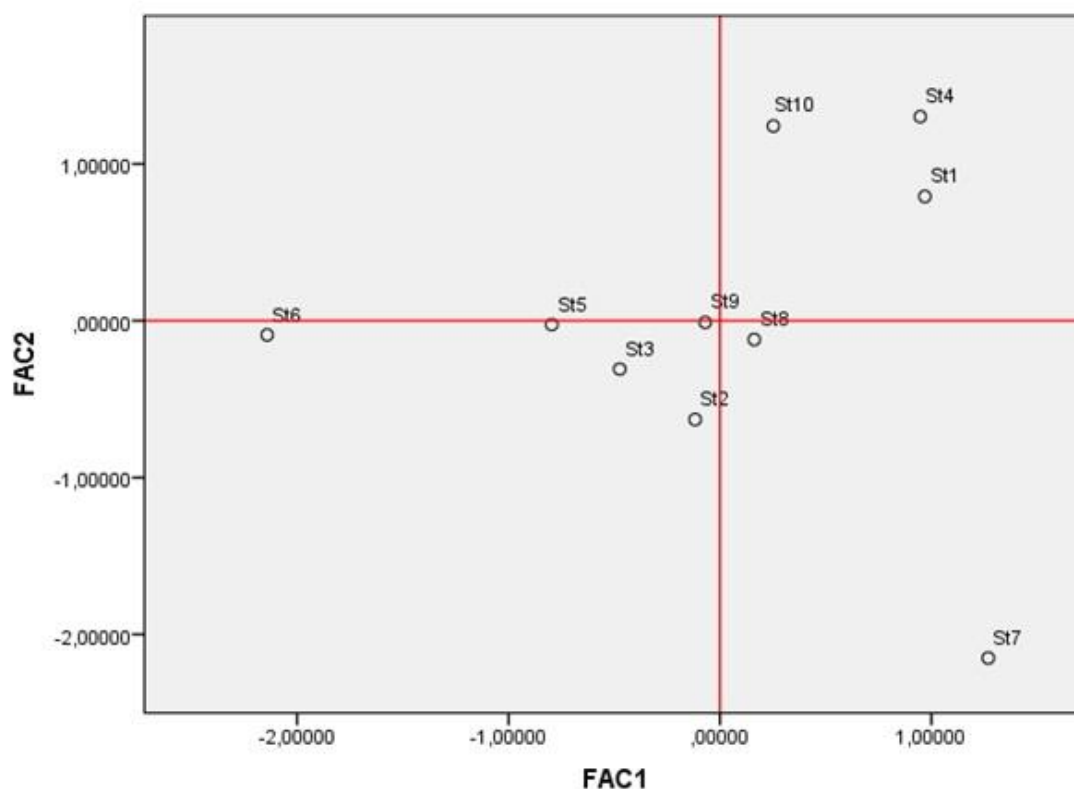


Fig N° 8. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM à 20 cm de profondeur.

La figure 8, ci-dessus, permet de dégager les conclusions suivantes :

- La proximité des stations st9, st8, st3 et st2 au centre du graphique permet de conclure qu'elles se ressemblent par le fait que les valeurs qu'elles prennent pour certains éléments traces sont proches des moyennes correspondantes. Les éléments traces auxquels il faut s'intéresser sont ceux qui contribuent le plus à la construction de la première composante principale à savoir Cr, Fe, Pb et Mn. En effet, le tableau 13 confirme ce constat.

- La station st6 se situe isolé et éloignée du centre et presque sur l'axe horizontal. Ceci s'explique par les grandes valeurs qu'elle prend pour les traces Cr, Fe, Pb et Mn. Ces valeurs s'écartent beaucoup des moyennes correspondantes (voir le tableau 12). Notons aussi que les valeurs des éléments traces Cu et Cd (qui contribue le plus à la construction de la deuxième composante principale) qu'elle rend sont presque égales aux valeurs moyennes correspondantes.

Tableau N° 12. Ecart à la moyenne rapporté à l'écart-type

Tableau 14 : Ecart à la moyenne rapporté à l'écart-type								
Station	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
St1	-0,379	0,988	1,636	1,605	-0,046	-0,431	1,205	0,139
St2	-0,374	-0,093	-0,700	0,259	-0,109	-0,856	0,580	-1,058
St3	-0,374	-0,189	-0,708	-0,029	-1,139	-0,411	0,199	-1,289
St4	-0,324	0,811	1,613	0,675	0,795	1,413	0,468	0,089
St5	-0,334	-0,966	-0,692	-0,825	-0,427	0,209	-0,777	-0,012
St6	-0,329	-2,278	0,026	-1,972	-1,608	-1,555	-2,190	-0,181
St7	2,837	0,879	-0,686	0,951	1,898	-0,275	0,811	-0,282
St8	-0,101	0,180	-0,704	0,185	-0,209	-0,466	0,661	2,452
St9	-0,324	0,038	-0,688	-0,556	0,801	0,767	-0,462	-0,104
St10	-0,298	0,629	0,902	-0,291	0,045	1,604	-0,494	0,244

L'isolement de la station st7 (tableau ci-dessus) est principalement causé par la valeur qu'elle prend pour l'élément trace Cd. En effet, cette valeur est si élevée qu'elle tire la moyenne vers le haut jusqu'à ce qu'elle dépasse toutes les mesures des autres stations. L'explication de ce phénomène est difficile à sortir car sur le terrain rien ne peut prédire une distinction de cette station par un quelconque facteur physique du milieu pouvant induire cette élévation de l'élément Cd, ce qui serait probablement lié à des conditions chimiques particulières à cet endroit.

3/Analyse des ETM des trois organes du maïs:

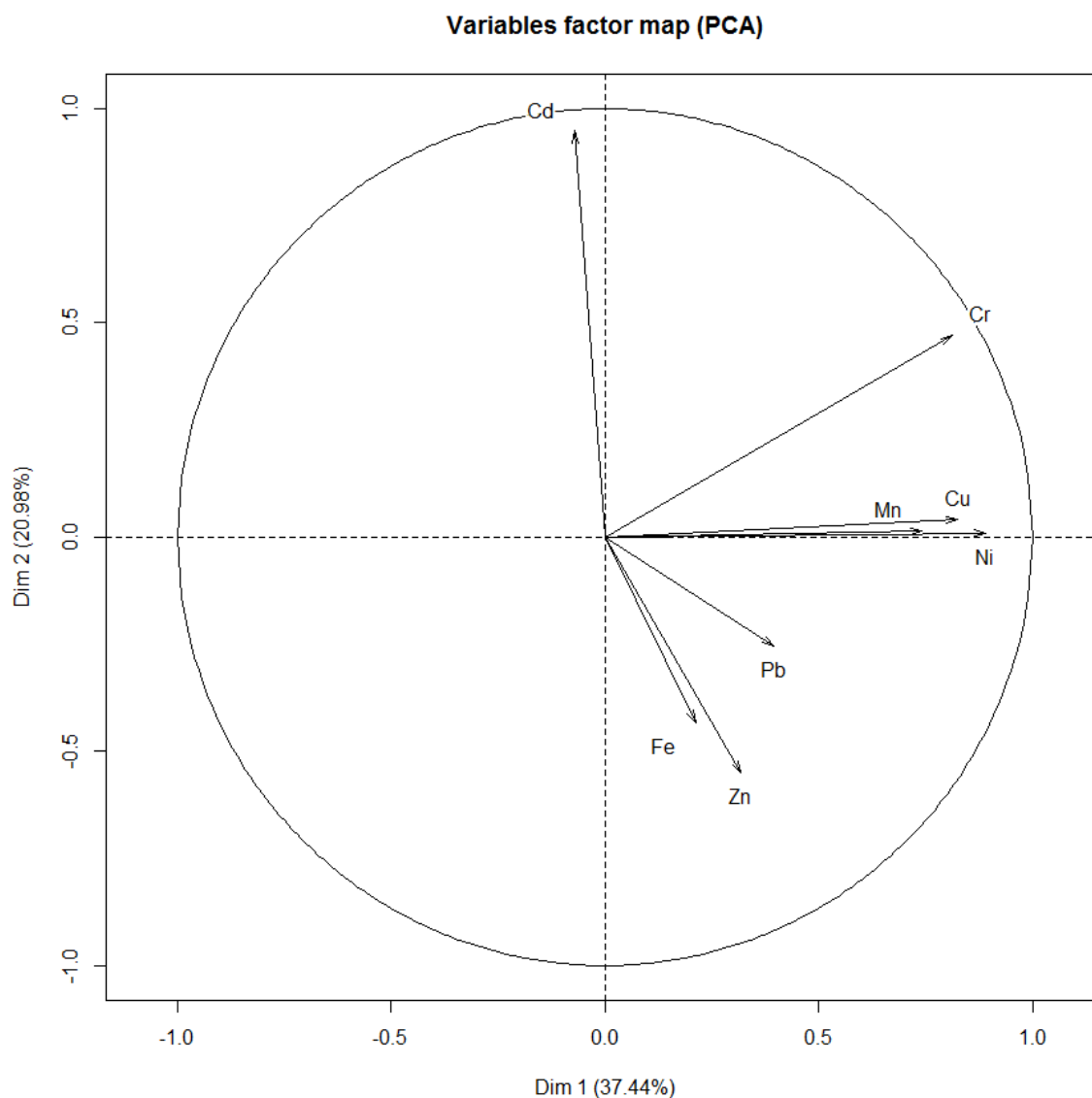


Fig N° 9. Représentation des éléments traces sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM dans les racines, feuille et épi du maïs.

De cette figure nous tirons que les éléments traces Mn, Cu et Ni sont situés sur l'axe F1 avec un rayon qui tend vers la valeur un. Ils sont donc fortement corrélés et contribuent ainsi fortement à la construction de cet axe. Ces éléments présenteraient des affinités biologiques entre eux comme une ou des propriétés amenant à une synergie ou bien une facilité à traverser les membranes cellulaires.

Alors que les éléments métalliques Fe, Pb et Zn, bien qu'ils soient corrélés, contribuent peu à l'axe F1 et négativement à la construction de l'axe F2. L'élément Cd seul ayant une amplitude forte selon F2. Cette figure reste inchangée dans les trois cas d'analyses pour la racine, feuille

et épi du maïs, ce qui signifie que tous ces éléments ont le même comportement physiologiques sans distinction d'organe.

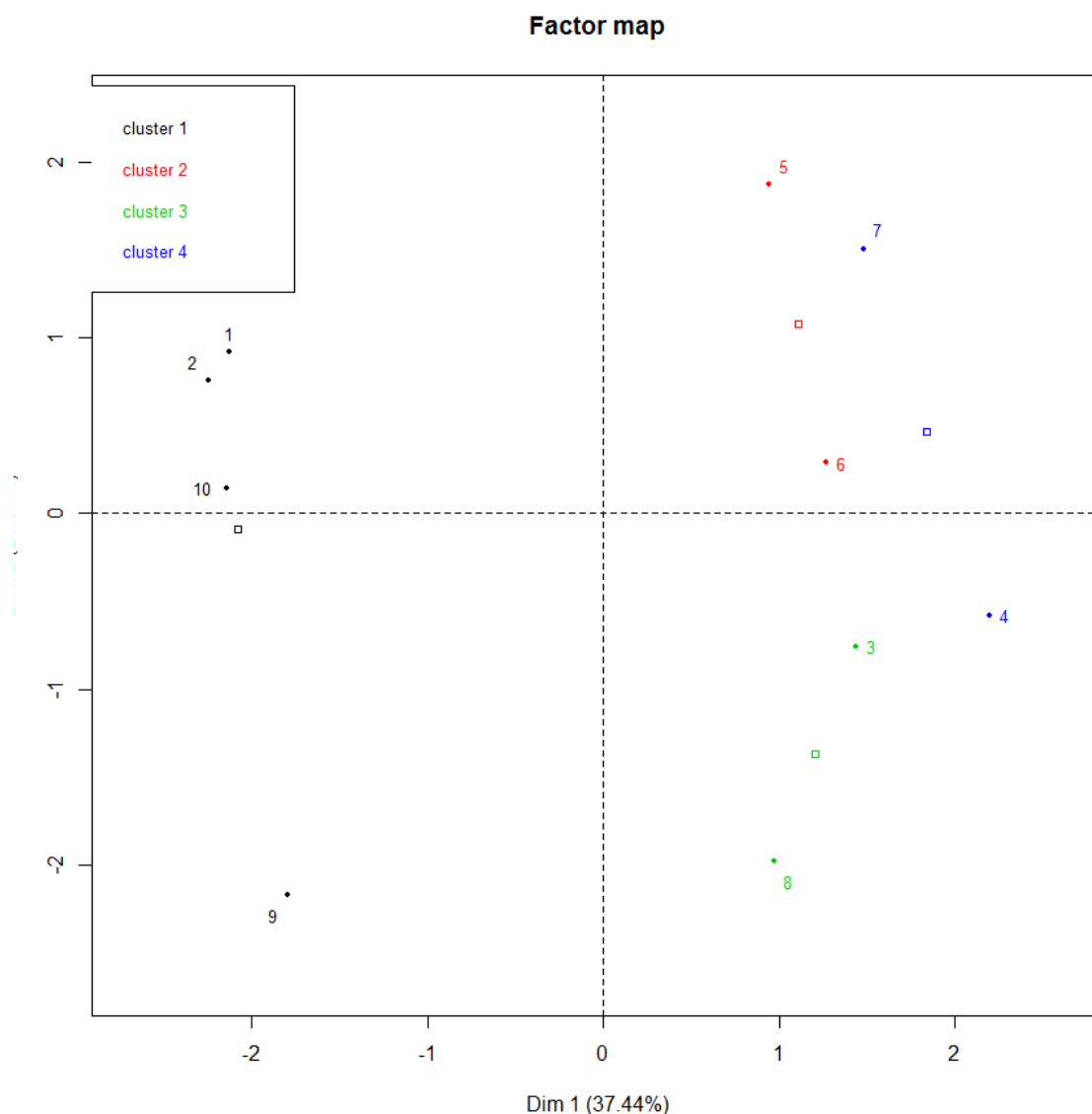


Fig N° 10. Représentation des stations sur le plan FAC1xFAC2, relative aux ETM dans racines du maïs (trouvée identique pour les 3 organes de la plante).

La figure 10 met en évidence les familles de stations regroupées selon leur ressemblance vis-à-vis du contenu en ETM dans les raciness du maïs. Elle met en évidence 4 groupes de familles (cluster). Les stations 1, 2, 9 et 10 participent négativement par rapport à construction de l'axe 1, alors, alors que les 3 autres groupes y jouent un rôle positif. Cette distribution est le fait des valeurs des éléments les plus ou moins éloignées de la moyenne.

Comme la figure de la representation des valeurs de la matrice, cette dernière reste inchangée pour toutes les parties analysées de la plante (racine, feuille et épi). Ceci signifie qu'il n'y a

aucun comportement différentiel, d'un point de vue physiologique ni d'accumulation sélective dans une quelconque partie de la plante contrairement aux matrices sols ou habituellement dans les tissus animaux où l'on trouve une affinité de concentration au sein d'un organe donné.

Tableau N° 13. Matrice des éléments ETM relative aux 3 organes du maïs (racine, feuille et épi).

	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
Cd	1.00	0.38	0.04	-0.29	-0.16	-0.05	-0.22	-0.51
Cr	0.38	1.00	0.77	-0.10	0.50	0.62	0.12	0.19
Cu	0.04	0.77	1.00	0.32	0.33	0.56	0.27	0.31
Fe	-0.29	-0.10	0.32	1.00	0.10	0.16	0.03	-0.04
Mn	-0.16	0.50	0.33	0.10	1.00	0.77	0.20	-0.01
Ni	-0.05	0.62	0.56	0.16	0.77	1.00	0.32	0.21
Pb	-0.22	0.12	0.27	0.03	0.20	0.32	1.00	0.04
Zn	-0.51	0.19	0.31	-0.04	-0.01	0.21	0.04	1.00

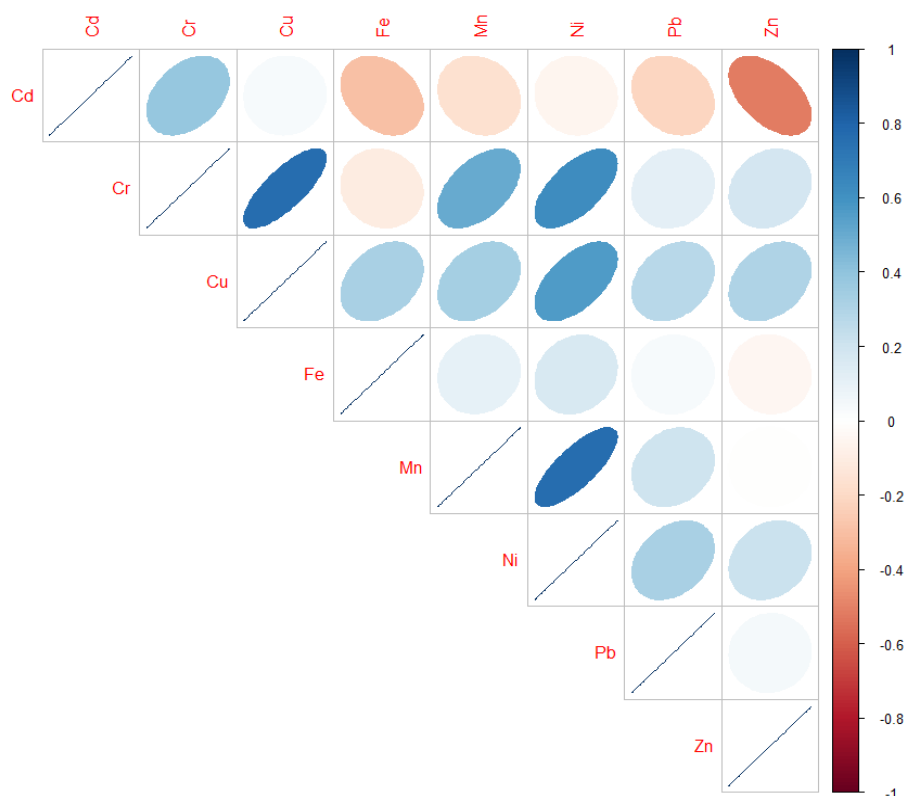


Fig N° 11. Représentation des éléments traces à partir de la matrice de leurs confrontations (identique pour les trois organes de la plante).

La figure 11 affronte les ETM 2 à 2. L'aplatissement de l'élypse d'affinité est proportionnelle à la corrélation entre les éléments en question. Il en ressort que seulement 2 couples d'éléments sont fortement corrélés : Cr/Cu et Mn/Ni (relation supérieure à 0.77).

4-Conclusion :

Cette analyse factoriale a expliqué les affinités des ETM dans chaque type de matrice dépendant de relation très complexes de nature chimiques ou biologiques. Elle montre aussi que des groupements de métaux participent plus que d'autres au sein de relations de synergie ou d'inhibition dans les matrices en question.

Partie II : L'abeille, les eaux usées et la pollution des matrices apicoles.

Chapitre I- Etude bibliographique :

I- Biologie de l'abeille :

1- L'abeille et la vie sociale de castes :

L'abeille *Apis mellifera* est un insecte social dont la vie et le comportement en dépendent énormément. Une colonie devenue très faible n'aura aucune chance à la survie. Une ruche comporte :

-Une reine unique, seule femelle pondeuse, conduisant à une descendance à 2n chromosomes de travailleuses. Elle est reconnaissable par sa taille différente des autres composantes de la colonie. En effet elle a un corps un peu plus gros et plus long que les butineuses. Elle n'a droit qu'à une seule sortie nuptiale, une semaine après son éclosion, durant laquelle elle s'accouple avec plusieurs bourdons. Elle se nourrit spécialement de gelée royale pendant toute sa vie qui dure 4 à 5 ans. Durant cette période sa fonction principale est la ponte au quotidien tant que les approvisionnements existent. Cependant elle gère la colonie grâce aux émissions de phéromones royales typiques qui permettent la reconnaissance des individus d'une même colonie et les distinguent des intrus potentiellement pilleurs.

-Les « faux bourdons », sont des males gros et robustes. Leur nombre est très réduit par rapport à l'effectif de la colonie. Ils sont nés de la ponte des ouvrières (œuf non fécondés à n chromosomes) en période printanière pour la fécondation des jeunes reines. Ils ne sont présents que pendant le printemps et l'été, après quoi les ouvrières les tuent pour économiser les réserves de miel. En effet les males ne participent pas à la cueillette du nectar et ne butinent pas les fleurs. Par contre ils en sont de gros consommateurs à l'intérieur de la ruche.

-Les butineuses : ce sont des femelles qui ne pondent que pour le besoin de créer des ouvrières parthénogénétiques ou en cas de la mort de la reine, aboutissant à une ruche bourdonneuse condamnée à disparaître. Elles sont très actives et énergétiques tant que la température n'est pas basse et permet le vol. Elles assurent toutes les tâches de la colonie allant du butinage épuisant du nectar et de l'eau, au nettoyage de la ruche, au nourrissage des larves et la cueillette de la propolis pour en enduire les parois de l'enceinte.

2-Evolution et position systématique :

L'apparition des abeilles est intimement liée à l'épanouissement des plantes à fleurs (angiospermes) qui produisent du nectar et du pollen sans lequel leur survie est impossible. La

plus ancienne abeille fossile retrouvée était dans un morceau d'ambre qui daterait de 40 à 100 millions d'années (ADAM. 2010).

Les abeilles forment un clade d'insectes hyménoptères de la superfamille des apoïdes. Au moins 20000 espèces d'abeilles sont répertoriées sur la planète dont environ 2000 en Europe. Elles ont des membres et des caractéristiques communes et possèdent une longue langue pour recueillir le nectar ainsi que des pattes arrière, dotées d'un astucieux système pour entreposer le pollen en pelotes. L'espèce la plus connue est *Apis mellifera* qui produit le miel.

Plusieurs races d'abeilles existent dans le monde avec des endémismes locaux. La détermination des races d'abeilles et de leurs hybrides est généralement obtenue à l'aide de mesures ou d'estimations de caractéristiques morphologiques. Le plus souvent, aucun de ces critères biométriques ne suffit, à lui seul, pour la discrimination escomptée, et l'utilisation simultanée d'un certain nombre d'entre eux s'avère indispensable. En Europe occidentale jusqu'à présent 26 sous-espèces de l'espèce *Apis mellifera* ont été décrites sur la base de caractères morphologiques, génétiques, écologiques et comportementaux. L'abeille Occidentale *Apis mellifera*, occupe une aire géographique très vaste (Afrique, Europe, Moyen-Orient, Amérique et Océanie). Face à la grande diversité de climats et d'habitats, la sélection naturelle a abouti à plusieurs sous-espèces adaptées à chaque milieu (dont *Apis mellifera mellifera*). Les chaînes de montagnes constituant des barrières efficaces pour les abeilles, cela explique comment trois sous-espèces différentes ont pu se développer sur une courte distance le long de la côte nord de la Méditerranée d'Europe occidentale : *Apis mellifera iberica* en Espagne, *Apis mellifera mellifera* en France et *Apis mellifera ligustica* en Italie (Toullec. 2008). De même les chaînes Atlasiques au Maroc ont pu isoler des espèces de part et d'autre. La première race géographique décrite a été *Apis mellifica intermissa* par BUTTEL-REPEN (1906) et RUTTNER. (1968). Ses principales caractéristiques morphologiques sont données par RUTTNER (1968). Son aire de distribution couvre l'Afrique du Nord (Tunis, Algérie et Maroc). Alors que *Apis mellifica sahariensis*, grosse et jaune, couvre l'aire au-delà du Grand Atlas vers le Sud-est (Tafilalet). C'est une abeille qui a une portée de butinage parmi les plus importantes à plus de 8 km de leur ruche. Mises en compétition avec les autres races locales, elles récoltent beaucoup plus de miel et de pollen et sont en même temps très économes. Contrairement à la race tellienne qui poursuit son élevage tant qu'elle a des provisions, même si la miellée est terminée, la saharienne la réduit aussitôt et garde précieusement ses réserves (HACCOUR. 1961). Ceci a été confirmé par des

recherches ultérieures (DAOUDI et HASSANIA.1987). Cependant cette classification n'a plus de sens, à notre avis, tant l'apiculture dite moderne a permis des transhumances à des distances considérables, éliminant ainsi les barrières et isolements géographiques. Il en résulte des hybridations aboutissant à de multitudes de clones. L'introduction au Maroc de l'abeille Italienne tôt, les années soixante-dix, a compliqué ces croisements : il en résulte une mixture génétique qui a éclipsé les espèces endémiques et a rendu l'abeille vulnérable en Afrique.

En Espagne, région limitrophe au Nord du Maroc, une étude biométrique réalisée des colonies espagnoles (CORNUET et FRESNAYE. 1989), provenant des régions de Saragosse, Soria, Oviedo, Madrid et Grenade et de la région de Lisbonne (Portugal) ont permis d'établir les caractéristiques morphologiques de la race iberica. Elle a montré l'existence d'une différenciation à l'intérieur de cette race, qui se manifeste par un gradient nord-sud pour la longueur de la langue et des poils. Ce gradient n'est que l'expression locale d'une branche évolutive de l'espèce qui relie les races nord-africaines (sahariensis, intermissa, major) à la race mellifica.

L'abeille dite « noire » existait au Maroc jusqu'à les années soixante-dix, espèce de petite taille, active et particulièrement méchante mais prolifique et bien adaptée aux écosystèmes Marocains. L'introduction de l'abeille jaune italienne au Maroc, *Apis mellifera ligustica* (SPINOLA. 1806) pendant les années quatre-vingt, préférée pour sa douceur et sa capacité à élever du couvain tard dans la saison et tant qu'elle dispose de nourriture (et donc sa capacité à un rendement meilleur que l'abeille locale) a été un événement regrettable car il a mélangé les génomes Européens à ceux d'Afrique du Nord et a éclipsé les races locales comme la « noire ».

3-L'abeille et la pollinisation des plantes :

L'abeille a une importance primordiale dans la pollinisation et la mise à fruits. En termes de rendement 30% des récoltes agricoles sont les résultats du travail de cet insecte. En plus d'améliorer les qualités originales des fruits, les pommiers bien pollinisés donnent des fruits de bon calibre et qui se conservent mieux (MARCEAU et al. 1998).

Si cet insecte venait à disparaître, l'événement serait un désastre sans précédent qui mettrait en cause le système de la production agricole en totalité et la pérennité de l'Homme.

4-L'abeille et les températures ambiantes :

Tout d'abord noter qu'il y a une différence significative entre les températures à l'intérieur de la ruche et celle du milieu ambiant externe.

Les basses températures sont néfastes pour les abeilles. Elles incitent à une grande consommation du miel surtout quand elles durent longtemps mettant en péril la survie des abeilles. Les températures froides limitent la durée d'envol des insectes et retardent beaucoup leur première sortie surtout pendant les mois les plus froids.

Les températures chaudes, par contre sont bénéfiques pour ces insectes et il n'y a pas de limite d'activité. Elles sont cependant gênantes pour les larves non operculées qui peuvent être sujet à la déshydratation. La thermorégulation est limitée au nid de couvain. Sa température ne dépasse pas 37, 6°C alors que la température ambiante peut avoisiner 48°C. L'activité des abeilles butineuses se poursuit malgré les températures extrêmement élevées jusqu'à 48°C.

5-Le rapport de l'abeille avec l'eau :

L'eau est importante dans l'alimentation de l'abeille. L'abeille utilise l'eau pour boire ou pour humecter le miel cristallisé pour faciliter son ingestion. La gelée royale et le pain de pollen en contiennent une grande quantité. L'eau est également utilisée dans la fabrication de la gelée royale. L'abeille utilise aussi l'eau pour la thermorégulation de la colonie car l'évaporation de l'eau permet de rafraîchir la température de la colonie (ADAM. 2010).

5-1-Le besoin en eau d'une colonie :

L'abeille est connue pour l'usage massif de l'eau pour boire, pour alimenter le couvain, les nourrices, pour diluer le miel déjà stocké en vue de rationner sa consommation et pour asperger les rayons et les parois de la ruche afin d'atténuer la chaleur des étages (LE CONTE, non daté). Ce besoin en eau augmente considérablement d'un pays (10 l/ruche/an en France) à un autre plus chaud et d'une saison à l'autre. Pour une colonie d'abeilles, les apports en eau par les butineuses sont d'environ 10 litres par an, et varient fortement en fonction de la latitude. Les abeilles des régions chaudes en ont un besoin plus important que celles des régions fraîches. Le plus remarquable est l'utilisation qu'en font les ouvrières pour assurer la thermorégulation du nid à couvain lors de conditions météorologiques chaudes. Elles déposent de l'eau sous forme de films minces ou de gouttelettes dans les cellules, (LE CONTE. Voir adresse laboratoire en références).

Combien d'essaims sont anéantis à la sortie de l'hiver, qui pourtant ne manquait pas de provisions de miel. Celles-ci se retrouvent encore dans la ruche parfois en quantité suffisante après dissémination. On parle souvent de la perte de colonies suite à une famine, aux maladies mais jamais on en parle par manque d'eau. En fait une longue durée hivernale ou printanière de basses températures, empêchant les butineuses de sortir, et en absence liquide suffisant au besoin des abeilles, n'est-elle pas aussi préjudiciable qu'une famine ? Une colonie peut mourir de soif non par manque de l'eau à l'extérieur, mais par la privation d'envole à cause des températures externes basses. En effet pour s'approvisionner en eau les butineuses sont capable de quitter la ruche à 7°C alors qu'elles ne le font pour la cueillette du nectar qu'à partir de 15°C. Ceci explique une obligation à s'aventurer par de telles conditions pour avoir de l'eau car comme chez toutes les créatures, l'on peut mourir rapidement par la soif que par la famine.

Dans des endroits arides et en saisons chaudes ce besoin est spectaculaire et devient une priorité. Les abeilles n'ont pas d'alternative que d'aller boire les eaux les plus proches, même usées, car les sources d'eau naturelles s'épuisent. D'ailleurs les apiculteurs savent bien que l'abeille a une préférence des eaux tièdes et polluées par la matière organique, aux eaux propres de sources et rivières, ceci quand il y a le choix.

5-2-Comportement de l'abeille vis-à-vis des eaux :

On a longtemps qualifié l'eau comme un liquide transparent limpide sans odeur ni saveur. Pourtant, dans bien des situations de manipulation de l'eau naturelle en milieu plus ou moins aride, l'on a l'arrivée immédiate des abeilles tournant en rond puis s'abreuver : l'eau a-t-elle une odeur plus ou moins détectable par les différentes créatures ? Sinon une explication du phénomène s'impose. L'odeur de la terre mélangée à l'eau pourrait susciter à une explication. Or par plusieurs occasions nous avons fait usage de l'eau de puits, portant limpide et exempte de tout additif notamment le chlore. Son versement direct dans un récipient sans qu'il touche le sol attire abeilles en peu de temps (2 mn) : Il y a bien quelque chose qui les averti de la présence d'eau. Cette mystérieuse détection de l'eau reste à expliquer.

Bien que des abeilles puissent récolter fréquemment l'eau claire sur les marges des plans d'eau les plus proches, elles ne recherchent pas particulièrement les eaux pures mais préfèrent celles des mares, voire celles des purins ou des urinoirs qui leur procurent en plus des matières azotées : Elles ont un préférendum pour les eaux insalubres surtout quand il

s'agit de pollution organique. Ce comportement est d'autant vrai que l'entourage de la ruche (4 Km autour) ne présente pas d'autres alternatives d'abreuvoir.

6-L'abeille et la biodiversité :

En contribuant à la survie et à l'évolution de plus de 80 % des espèces de plantes à fleurs dans le monde, soit plus de 20 000 plantes sauvages rien qu'en Europe, l'abeille joue un rôle essentiel pour l'environnement (CELLI et MACCAGNANI. 2003). En élevant des abeilles, en multipliant les ruches, les apiculteurs contribuent à cette pollinisation. Leur inestimable travail est récompensé par la vente de quelques kilogrammes de miel ou d'autres produits issus de la ruche. Ces abeilles continueront-elles à le faire encore vu l'effondrement des colonies observé à travers le monde ?

L'incidence de la pollinisation par les insectes est difficile à évaluer. Toutefois, en Europe, 84 % des espèces de plantes cultivées sont directement ou indirectement tributaires de l'activité des insectes pollinisateurs. Plus de 70 % des 124 types de cultures les plus importantes au niveau mondial (à la base de l'alimentation humaine), dont la quasi-totalité des arbres fruitiers, bénéficient de l'activité pollinisatrice des abeilles sauvages ou domestiques. « Le quart des cultures qui nourrissent l'humanité en dépend » résume B. VAISSIERE, spécialiste des pollinisateurs à l'INRA (LAVIE. 2008). De nos jours cette activité de pollinisation expose les abeilles au péril des pesticides sur les plantes traitées.

Par une très belle journée, le tiers d'une colonie (Ce qui peut représenter 15 000 – 20 000 abeilles) peut quitter la ruche pour butiner et produire jusqu'à 6 kg de miel dans des conditions très optimales. Pour chaque kilo de miel, il faut près de 50 000 vols et plus d'un million de fleurs visitées. Ceci en précisant que durant sa vie de butineuse, chaque ouvrière est spécialisée dans une espèce florale particulière et ce jusqu'à l'épuisement de la ressource ou l'identification d'une autre plus intéressante. Ces chiffres illustrent l'importance quantitative et qualitative de la pollinisation réalisée par l'abeille domestique.

II-Effets des polluants sur la pérennité des abeilles :

Les menaces pour les insectes pollinisateurs sauvages génèrent à la fois des préoccupations écologiques et socio-économiques. En effet les pressions anthropiques multiples peuvent exacerber les déclin des pollinisateurs. Une pression clé est l'exposition aux produits chimiques, y compris les pesticides et autres contaminants (Heard et al. 2016), alors un déclin de l'économie s'en suivra certainement.

1-Effets des ETM sur l'abeille :

Les métaux lourds ont des effets à la fois sur la croissance et, à des doses importantes, sur la survie de ces insectes (DI et al. 2016). Ces effets ajoutés à ceux d'autres produits tels que les pesticides ont des effets de synergie. Les métaux ont probablement une conséquence fâcheuse sur les effectifs et les colonies d'abeilles. En effet l'abeille (*Apis mellifera L.*), rencontre divers polluants métalliques via des voies d'exposition différentes, y compris la recherche de nectar sur les ressources végétales contaminées et également à cause de l'usage de l'eau contenant ces métaux. Des essais de toxicité aiguë ont été effectués sur des larves et les butineuses d'abeilles, utilisant une alimentation artificielle avec des solutions à 50% de saccharose contenant du cadmium (Cd), du cuivre (Cu) et du plomb (Pb). Il a été constaté que la mortalité augmentait à la fois chez les larves d'abeilles et les butineuses, selon la dose-effet. Les larves témoins présentaient des indices de croissance relatifs nettement plus élevés entre le 6^{me} et le 10^{me} jour, comparativement à tous les essais contenant des métaux, qui démontraient des effets négatifs importants sur le développement. Le cuivre était le moins toxique pour les larves avec une LC50 de 6,97 mg L⁻¹. Pour les butineuses, le Pb a la CL50 la plus élevée, soit 345 mg L⁻¹. Les butineuses et les larves accumulent des quantités importantes de tous les métaux, après quoi la consommation subséquente de saccharose diminue. Dans l'ensemble, les larves d'abeille et les butineuses subissent des effets néfastes lorsqu'ils ont été exposés à des concentrations écologiquement pertinentes de Cd, de Cu et de Pb (DI et al. 2016).

2-Menace des pesticides sur l'abeille :

Historiquement, l'abeille mellifère (*Apis mellifera spp.*), a été utilisée comme une espèce «indicatrice» en tests écotoxicologiques «standard», mais il a été suggéré qu'elle n'est pas toujours une bonne approximation pour d'autres types d'abeilles sociales et solitaire en raison des différences entre les espèces (HEARD et al. 2016). Les pesticides sont incontestablement les produits chimiques les plus influents et les plus dangereux sur les écosystèmes et particulièrement sur les insectes. Les effets négatifs des pesticides, en particulier des insecticides, sur les abeilles et autres pollinisateurs n'ont jamais été contestés. Les insecticides peuvent tuer directement ces insectes vitaux, alors que les herbicides réduisent la diversité de leurs ressources alimentaires, affectant ainsi indirectement leur survie et leur reproduction. Au niveau sous-létal (<DL50), on sait que les molécules d'insecticides neurotoxiques influent sur les capacités cognitives des abeilles, compromettant leur performance et finalement ayant une incidence sur la viabilité des colonies (SANCHES-BAYO et al. 2016).

3-L'effondrement des colonies d'abeilles :

« Si l'abeille venait à disparaître, l'Homme n'aurait plus que quelques années à vivre ». C'est l'une des versions de la phrase attribuée à Albert Einstein. Quelle que soit l'émanation de cette parole, elle véhicule un message vrai de mise en garde : Le sort de l'humanité est lié à celui des pollinisateurs surtout insectes, dont essentiellement les abeilles. L'apport de ces créatures minuscule ne peut être sous-estimé tant en termes de rendements agricoles qu'en terme d'enrichissement de la biodiversité.

Le déclin mondial des colonies d'abeilles domestiques au cours des 50 dernières années a souvent été lié à la propagation de l'acarien parasite *Varroa destructor* et son interaction avec certains virus de l'abeille portés par l'acarien (KANG et al. 2016). Malgré l'énorme intérêt du public pour les récentes pertes importantes d'abeilles attribuées au désordre de l'effondrement des colonies, il n'y a toujours pas d'explication définitive pour le phénomène. Je soutiens davantage cette hypothèse en montrant que les États qui possèdent les plus grandes étendues de terrains ouverts ont un rendement significativement plus élevé du miel par colonie (KANG.2009). Nous croyons qu'une insuffisance alimentaire des abeilles en pyrèthres et d'autres micronutriments provenant de plantes productrices de pyrèthres permet aux acariens parasites de tuer les abeilles directement ou de réduire leur résistance à d'autres pathogènes (SHARPE et HEYDEN. 2009).

III- Les principales matrices apicoles :

Plusieurs produits, alimentaires ou non, sont issus du développement d'une ruche. Si ces multiples composants ne sont pas toutes consommables, elles sont, par contre, toutes porteuses d'indices de pollution ou de propreté du milieu ambiant avoisinant la ruche. Elles deviennent désormais supports d'analyses dans les laboratoires et d'études de l'environnement.

1-Le produit miel :

Le Codex Alimentarius, selon l'organisation mondiale de la santé, qualifie le miel comme étant la substance naturelle douce produite par les abeilles à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties de plantes ou des excréments d'insectes suceurs sur les parties vivantes de plantes, qu'elles recueillent, transforment et combinent avec des matières spécifiques propres, puis déshydratent et déposent, entreposent et laissent mûrir dans les alvéoles des rayons. Le miel est donc du nectar ou une sudation de plantes d'abord cueillie

puis élaboré par les abeilles. Il est ramassé essentiellement à partir de nectaires des plantes, mais aussi de sécrétions de fruits (glands de chêne vert, nêfle...), des sécrétions de feuilles (oranger,...), de branches et sommités tendres (caroubier, thuya,...), sudation de branches et tronc (cèdre). Le miel est un produit très riche d'un point de vue alimentaire. Il contient de nombreuses composantes dont les protéines, les amino-acides, vitamines, oligo-éléments, des sucres et des enzymes (CUI et al. 2015, SAXENA et al. 2010). Certains miels tardifs dans la saison, quand tout est mis à sec l'été et l'automne, proviennent d'un seul type de fleurs et sont dit monofloraux). Le produit miel a longtemps été considéré comme un produit noble, naturel et loin de tout soupçon de pollution. IL est mentionné dans la Bible et le Coran et dans la mythologie grecque et chez les pharaons comme un aliment nourrissant et guérissant. Il est un aliment des plus facilement assimilables. Il était presque la seule source de sucre à la disposition des anciens et a été apprécié pour ses vertus médicinales. En Égypte, il a été employé comme un matériau d'embaumement des cadavres grâce à son action antibactérienne. Dans de nombreux pays, il était et est toujours utilisé pour conserver les fruits (BRAZIEWICZ et al. 2002).

Le miel est également précieux comme produit d'une valeur ajoutée élevée tant sur les marchés nationaux qu'internationaux et joue un rôle important dans certaines traditions culturelles. Il constitue de ce fait une source potentielle, non négligeable, de revenus pour la population rurale, en même temps qu'il peut contribuer à l'amélioration de l'alimentation humaine.

2-Le miellat :

C'est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Il est plus dense que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes. Il est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar et produit un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar. La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalisant essentiellement sur les arbres forestiers comme le sapin, le cèdre, le thuya, caroubier, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (BONTE et DESMOULIERE. 2013). Il peut être aussi une sécrétion de plantes directement ramassé par les abeilles (Constatation personnelle), cas d'émission de liquides par le tronc et les grosses ramifications du cèdre ou le cas de nombreux bouton de floraison de. Cette sudation est élaborée par temps (Au Maroc de Juillet à septembre) et elle est arrêtée aussitôt par les premières pluies qui lessivent la matière sucrée et arrêtent l'activité de sécrétions. Dans certains cas on parle d'un miellat car il provient

indirectement des plantes via des sécrétions par temps très chaud ou par les déjections de certains insectes suceurs, surtout les pucerons, qui ont la possibilité de sucer la sève de sommités tendres et d'en rejeter une partie assez sucée. Les miellats sont plus appréciés par certains consommateurs connaisseurs que le miel car ont généralement un goût fort, une couleur foncée (antioxydant) et riches en minéraux.

3-Le pollen :

Le pollen est un produit farineux constitué d'une multitude d'éléments microscopiques, les grains de pollen, qui mesurent chacun de 20 à 40 microns. Il est de couleur varié d'une plante à une autre. Il est sous forme de plusieurs boules (sacs polliniques) portées par des antennes autour des fleurs hermaphrodites chez les végétaux supérieurs. En fait le grain pollen est un gamétophyte mâle, l'élément fécondant de l'ovule.

Le pollen est récolté par les abeilles sous forme de pelotes multicolores portées au niveau des pattes postérieures. D'après les analyses, cette poudre est un véritable concentré de vitamines (15 à 20 % de sa composition) et notamment de vitamines du groupe B ; de sels minéraux ; de glucides (35 %) ; de protéines (20 %) et de minéraux (calcium, chlore, cuivre, fer, magnésium, manganèse, phosphore, potassium, silicium, soufre). Il contient aussi de petites quantités d'antioxydants et de substances immunostimulantes. Il est connu pour ses vertus énergétiques, stimulantes et fortifiantes qui permettent d'améliorer les performances physiques (meilleure résistance à la fatigue) et intellectuelles. Il posséderait de nombreuses autres propriétés en tant qu'équilibreur fonctionnel et détoxifiant général. De ce fait il est objet de consommation pour réduire des carences ou pour fortifier le corps. Cependant le pollen est connu comme un facteur d'allergie chez des sujets et cause des malaises saisonniers. Certains apiculteurs ont mis au point des trappes à pollen qu'ils disposent à l'entrée des ruches, ce qui leur permet de récolter environ 10 % du pollen recueilli sur les fleurs par les ouvrières de la ruche. Aller au-delà de 10% de récolte entrave le développement de la colonie qui en dépend fortement puisqu'il est l'élément de nourriture primordial pour alimenter les larves d'abeilles. Les pelotes ainsi cueillies sont séchées et vendues, ce qui constitue une source de revenus supplémentaire en apiculture.

La diversité des plantes supérieures et leur grand nombre a fait du pollen une matrice incontournable des analyses de laboratoire. La présence de ces multitudes grains microscopiques légers, transportables par le vent et conservables en très grand nombre dans les sols et les glaces, en fait des archives biologiques et un outil statistique et scientifique d'un

grand intérêt. En effet la palynologie analytique revêt une importance pour les études de l'agriculture, du paléoclimat, paléoécologie, paléobotanique,...L'analyse pollinique est fondée sur deux particularités bien connues de la membrane pollinique :

- Sa spécificité morphologique qui fait que l'observation du pollen permet l'identification de la plante productrice ;

- La grande résistance à la corrosion fait que les grains de pollen et les spores émis en grand nombre s'accumulent et se conservent très bien dans des matrices d'ambiances humides (tourbières, lacs, paléo-chenaux, etc.) ou au contraire dans des milieux très secs, d'où ils peuvent être extraits par la suite. La méliissopalynologie qui est l'étude des grains de pollen dans le miel permet également l'identification de l'origine du produit miel, sa qualité, son authenticité, l'identification des plantes visitées des alentours et celles qui sont dominantes en tant que mellifères. De ce fait elle est un bon moyen de détection de la fraude de miel.

Intérêt nutritionnel et thérapeutique du pollen :

Le pollen est très riche en protéines ; 100 g de pollen apportent autant de protéines que 7 œufs ou 400 g de viande de bœuf. Sa richesse en acides aminés est quantitative mais également qualitative. Il est très riche en minéraux (FRERE. 1985). La composition moyenne du pollen récolté par l'abeille domestique est de : 27 % de glucides, 20% de protides, 21 acides aminés identifiés. Il contient tous les acides aminés essentiels en proportions intéressantes : Leucine 9,06 %, Lysine 7,70 %, Isoleucine 7,00 %, Valine 6,91 %, Phénylalanine 5,94 %, Thréonine 5,28 %, Méthionine 1,17 %, Tryptophane moins de 1%, 18% de substances cellulose, 15-18 % d'eau, 5 % de lipides, 5 % de minéraux. Des Vitamines : vitamine A (rétinol), vitamine B1 (thiamine), vitamine B2 (riboflavine), vitamine B3/PP (nicotinamide), vitamine B5 (acide pantothénique), vitamine B6 (pyridoxine), vitamine C (acide ascorbique), vitamine E (tocophérol). Des Oligo-éléments, une hormone de croissance, des substances antibiotiques et 3 % de composants divers non encore identifiés.

Par leur teneur en vitamines B et E, en phospholipides, en flavonoïdes et en acide glutamique (acide aminé capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et de stimuler l'activité des neurones), le pollen et le pain d'abeille exercent une action sur le processus de vieillissement généralement à l'origine de pertes de mémoire (GRABENSTEINER et al. 2007). Le pollen est le composé alimentaire le plus riche en Sélénium (antioxydant) (Frère. 1985). De par sa richesse en provitamine A et en rutine, il contribue à restaurer une bonne circulation chorio-rétinienne.

Enfin le pollen reste le meilleur marqueur des pollutions tant celles absorbées par les plantes que celles des apports aériens sur les fleurs. Il est donc d'une utilité non négligeable dans les laboratoires de l'analyse de l'environnement et du paléoenvironnement.

4-La propolis :

La propolis est l'un des produits importants de la ruche, ramassé par les abeilles à partir de la résine végétale présente sur les jeunes bourgeons de certaines plantes. Les abeilles la cueillent et la mélangent avec les sécrétions salivaires et de la cire (FINGER et al. 2014, STANCIU et MITITELU. 2004, GOLNAR. 2016). Elle est largement utilisée par les abeilles pour sceller la cavité du nid afin de colmater les fissures et les entrailles pour empêcher le courant d'air, le refroidissement de l'essaim et du couvain et aussi pour momifier les cadavres des intrus dans la ruche (WAGH. 2013).

La propolis a des applications en médecine notamment moderne, en raison de son caractère antibactérien, ces effets antiviraux et antifongiques (FINGER et al. 2014, STANCIU et MITITELU. 2004, GOLNAR. 2016). Les composants de la propolis dépendent de divers facteurs tels que les ressources végétales de la région, la géographie, les gommés végétales qui ont été recueillies et les espèces d'abeilles (GOLNAR. 2016). Les essaims en badigeonnent pratiquement tout l'intérieur du refuge probablement pour une asepsie totale de l'enceinte.

5-La gelée royale :

La gelée royale ou « lait des abeilles » est un produit de sécrétion glandulaire du système céphalique (glandes hypopharyngiennes et glandes mandibulaires) des abeilles ouvrières, entre le cinquième et le quatorzième jour de leur existence (ouvrières qui portent alors le nom de nourrices). C'est une substance blanchâtre aux reflets nacrés, à consistance gélatineuse, de saveur chaude, acide et très sucrée, qui constitue la nourriture exclusive (Wikipédia) :

- De toutes les larves de la colonie, sans exception, dès leur éclosion jusqu'au troisième jour de leur existence ;
- Des larves choisies pour devenir reines jusqu'au cinquième jour de leur existence ;
- De la reine de la colonie pendant toute la durée de son existence à partir du jour où elle quitte la cellule royale. Cette nourriture lui permet de vivre 40 fois plus longtemps qu'une abeille ouvrière. Ce phénomène étonnant témoigne de l'apport de vitalité de la gelée royale.

Elle est une source de nourriture complète et équilibrée pour les larves d'abeilles. Connue depuis l'Antiquité pour ses nutriments essentiels, la gelée royale est réputée pour ses nombreux effets bénéfiques. Elle possède différentes propriétés : Un véritable stimulant, fortifiant pour les défenses immunitaires, prévient des maladies dégénératives. Elle traite également des troubles digestifs et peut agir comme antianorexique. Elle est utilisée par l'Homme, non seulement pour l'hydratation, émulsifiant et stabilisant, mais également pour antitumorale et anti-inflammatoires, antifatigue et une activité hypotensive (NAGAI et INOUE. 2004, INOUE et al. 2003, EL-AIDY et al. 2015). On lui attribue beaucoup d'effets sur la santé : Elle stimule le système immunitaire, permet de lutter contre la fatigue, l'épuisement et même contre l'état dépressif. Dans d'autres cas, elle s'avère être aussi très efficace contre l'impuissance, la frigidité ou encore la perte de mémoire. C'est un véritable fortifiant et énergisant.

La sécrétion de gelée royale se fait par quantités infinitésimales ce qui rend sa production pour un but commercial, une affaire délicate, d'autant plus qu'elle nécessite de multitudes opérations d'orphelinage et remérage des essaims. Elle est limitée dans le temps, au printemps au Maroc.

6-Les essaims :

La reine d'abeilles est la seule à pondre tout le temps tant qu'il y a un approvisionnement de la ruche en pollen et en nectar. Elle est reconnaissable par sa taille nettement plus longue et légèrement plus grosse que les ouvrières. Elle est agile et craintive. Elle se distingue également par la durée de sa vie, très longue par rapport à ses congénères, soit 40x de plus.

Les essaims sont le produit de « l'essaimage » qui est la multiplication des colonies par la libération de paquets d'abeilles, dont une reine obligatoire, à partir d'une ruche. C'est un phénomène biologique apparaissant une seule fois par an (sauf exception de remérage forcé), au mois d'avril sur la côte atlantique marocaine nord. Il prend un retard par rapport à cette date selon et l'altitude et la latitude nord. De même il est d'autant plus précoce que l'on descend en latitude vers le sud. Une ruche saine et bien peuplée, peut emmêtrer jusqu'à dix essaims en en alternance une fois tous les deux jours. Les millions d'essaims sont donc libérés chaque année et se chiffrent en une valeur ajoutée impressionnante d'abord en tant que tel, puis par les rendements agricoles qu'ils génèrent par la pollinisation et les récoltes de miels parfois généreuses : on leur attribue 30% de tous les rendements agricoles et la quantité de

miel potentiellement produite. Des apiculteurs se sont spécialisés dans l'élevage destiné uniquement pour la pollinisation des vergers contre quoi ils sont hautement rémunérés.

7-Le venin d'abeille :

Apithérapie est la thérapie de venin d'abeille. Le venin d'abeille (Apitoxine) est un liquide très épais, incolore à odeur âcre piquante et un goût Cayenne amère. La sécrétion du venin dépend de l'âge de l'abeille. Habituellement, les abeilles femelles parthénogénétiques, commencent à émettre du venin une semaine après leur naissance et deviennent plus actives en deux ou trois semaines. L'analyse du venin révèle la composition suivante : méllittine 40-50%, appamine 3.4 à 5.1%, d'autres peptides 16%, hyaluronidase 20%, phospholipase A 14% ; acides aminés jusqu'à 1%, histamine 0,5 à 1,7% ; graisses et stérols jusqu'à 5% ; glucose 0,5%, fructose 0,9%, acide organique 0.04 à 0.14%. Sa réaction est acide (pH 4,5 - 5,5). L'utilisation du venin d'abeille à des fins thérapeutiques remonte à l'antiquité. Il a été utilisé dans l'Egypte ancienne, Inde, Chine et la Grèce.

L'action de venin d'abeille sur le corps humain est très complexe et dépend largement du nombre de piqûres, du lieu de piqûre et de la sensibilité de l'individu. La plupart des personnes en bonne santé peuvent facilement tolérer quelques piqûres sans danger (5-10 simultanées). Lorsqu'une grande dose de poison est injectée, il y a une réaction locale et générale, une augmentation de la température et un mal de tête. Dans des cas plus sévères, il y a également des vomissements, de la diarrhée, un essoufflement, une chute de la pression artérielle, une perte auditive et des convulsions. La mort peut survenir par insuffisance respiratoire. La dose létale pour un adulte est considérée de 500 piqûres simultanées, tandis que 200-300 piqûres provoquent des intoxications graves. La pique peut causer la mort si elle est au niveau de l'œil, la gorge, les amygdales, le palais mou et le cou.

L'apipuncture est le fait de se faire soigner par la piqûre de l'abeille femelle ouvrière qui est la seule à pouvoir piquer. Elle permettrait de soulager de nombreuses maladies. En effet, on lui attribue le soulagement de plusieurs affections rhumatismales et autres (les arthrites chroniques, certaines maladies inflammatoires, la sclérose en plaques, la maladie de Parkinson, les inflammations des tendons, les affections cutanées, la tendinite et les bursites, les problèmes d'articulations, la fatigue, la faiblesse, les troubles de la vision, la perte de l'équilibre, l'incohérence des mouvements, la détérioration de la parole). Elle semble aussi bénéfique pour les cicatrices, la colite ulcéreuse, les blessures, le traitement des cas d'anémie, l'hématie falciforme et la leucémie, l'obésité. En fait, toutes ces citations font

actuellement l'objet de recherches afin de les vérifier. Pour la maladie de Parkinson idiopathique (CHO et al. 2012, CAMILA et al. 2014), l'administration sous-cutanée du venin d'abeille a également été montrée pour induire l'activation des neurones catécholaminergiques dans le noyau arqué de l'hypothalamus des rats (KWON et al. 2004, CAMILA et al. 2014) et dans les noyaux dopaminergiques (CAMILA et al. 2014).

En conclusion, le venin d'abeille a normalisé tous les marqueurs neuro-inflammatoires et apoptotiques et a restauré la neurochimie cérébrale après une blessure à la roténone. Par conséquent, le traitement par le venin d'abeille est une thérapie neuroprotectrice prometteuse pour la maladie de Parkinson (WAGDY et al. 2015).

IV-Autres intérêts de l'abeille :

1-L'abeille source de produits soignants :

1-1-Les téguments de l'abeille : un antibiotique.

Le tégument de l'abeille a été identifié par hasard comme un antibiotique. Plus tard son « sang » aussi a été expérimenté et s'avérait contenir des antibiotiques : « J'ai été amené à étudier les substances antibiotiques chez *Apis mellifera* d'une manière fortuite : un certain jour, ayant plongé, sans précautions d'asepsie, dans un milieu de culture liquide aéré, des abeilles fraîchement tuées et entières, je n'ai obtenu aucun développement bactérien (LAVIE. 1960). Quelques essais du même genre furent réalisés par la suite. Les tissus du corps de l'abeille sont des antibiotiques naturels. Ce sera cette propriété qui transmettra au miel des sécrétions au cours du travail d'élaboration du miel par les abeilles et qui en fera également un produit soignant.

2-L'abeille et la production du miel :

2-1-L'apiculture :

L'apiculture est une activité para agricole depuis l'aube de l'humanité. Tous les foyers avaient un enclos de proximité comme rucher. En effet, la nature, jadis généreuse, émettait des essaims sans avarie car tous les écosystèmes terrestres étaient peuplés d'abeilles. Aujourd'hui et à cause des transhumances et de transfert d'essaims de continent en continent, le parasite varroa, agent de dissémination des abeilles, est devenu ubiquiste depuis les années quatre-vingt. De ce fait, les abeilles sont devenues exclusivement domestiques et elles ont complètement disparues des forêts.

Au Maroc, des régions sont plus connues que d'autres pour cette activité. Le centre marocain (région d'Agadir et Haha) est historiquement le plus réputé en la matière et abritait le plus grand rucher du monde. Le Gharb a pris la relève des mains des colons avec des ruches dites modernes et standards. On y a connu des crues parmi les plus impressionnantes au monde et ce, grâce aux forêts d'Eucalyptus.

Actuellement, l'apiculture au Maroc est de deux types :

- Les ruchers traditionnels existent encore chez des gens qui croient que c'est la seule façon d'avoir du miel digne de ce nom. Ces ruchers sont en nette régression notamment par l'aide apporté par l'Etat marocain par la donation de ruches peuplées.

- Les ruchers modernes, se sont répandus ces dernières décennies, surtout nord-ouest du pays. Les modèles des ruches communément d'usage au Maroc, sont la ruche américaine Langstroth et la ruche Dadant. La première est conçue pour les plaines côtières au climat assez clément tandis que la seconde, légèrement plus grande, est plutôt pour les régions montagneuses froides. Dans un cas comme dans l'autre la conduite du rucher laisse à désirer. En effet peu d'apiculteur ont un savoir-faire pour l'amélioration du rendement en miel, pour la lutte contre les maladies et pour la conduite à tenir vis à vis de produits chimiques utilisés ou présent dans le voisinage immédiat des ruches.

Au sein de la Chaouia (et par extension Doukkala), la plaine est quasiment une « meseta », a été fortement déboisée au cours des derniers siècles. La végétation endémique n'existe plus. De ce fait la région s'est spécialisée dans la production céréalière spécialement le blé. Les colons la considéraient comme « grenier du Maroc » et exportait les céréales en Europe. Dans cette physionomie d'agriculture dite « moderne » de monoculture, l'usage de produits chimiques qui l'accompagnent, et le défaut de jachères et de floraison suffisante, la région ne peut avoir une vocation apicole. L'état Marocain a tout de même fait un effort par la donation de ruches peuplées aux agriculteurs désireux. Cependant cette activité n'a pas eu l'écho qu'il fallait : ne n'observons nulle part la mise en place d'un rucher ni une conduite apicole convenable. Les quelques ruches en possession d'un agriculteur sont souvent délaissées, éparpillées le long des limites parcellaires car il n'y a pas d'espace réservé à cette activité. Il y a rarement plus de 4 ruches par exploitation, excepté dans le voisinage périurbain de Settat où il y a une ceinture forestière d'eucalyptus d'un intérêt apicole. Les quelques ruchers de quelques dizaines d'unité, y sont souvent sédentaires.

Dans ce contexte, la ruche de type Langshtoth est réduite à un «corps de ruche» et nous ne pouvons même pas parler d'un rendement : les agriculteurs se contentent du peu de miel qu'ils peuvent soustraire à la colonie souvent au dépend de sa disparition ultérieure.

2-2-Des techniques apicoles impropres :

Même modernes, les procédés de conduite des ruchers et de l'extraction du miel au Maroc restent loin des normes de sécurité et d'hygiène alimentaire. Beaucoup de pratiques apicoles au Maroc aboutissent à un produit impropre à la consommation voir ayant une certaine atteinte à la santé humaine. Des contaminants chimiques dits émergents (pesticides et antibiotiques), sont apparues dans les produits apicoles avec l'introduction de la ruche « moderne », massivement, vers la fin des années quatre-vingt. En effet tant l'usage des produits chimiques antiparasitaires et sanitaires chez l'abeille, ainsi que le recyclage de la cire, ne sont pas métrisés pour préservation de la qualité des différentes matrices apicoles (miel, cire, propolis, pollen et autres). Des anomalies sont notées au niveau de tous les apports humains à la ruche :

-L'utilisation de la cire gaufrée ou des bâtis, s'elles sont des atouts importants pour optimiser le temps de travail des abeilles, de la récolte et l'amélioration du rendement, elles peuvent être dangereuses par les apports chimiques cumulés pendant des années. En effet bien des éleveurs d'abeille se livrent à des pratiques non conformes. D'abord par l'usage de produits chimiques dangereux, non homologués, même à dose faible. Ensuite par usage de lanières ou des pulvérisations directes sur les cadres à des doses excessives ou répétées. Le recyclage de la cire de ces cadres d'année en année, augmente les concentrations de ces molécules chimiques à des niveaux particulièrement dangereux, ce qui contribuerait, peut-être, à la mort massive des colonies observée ces dernières années ;

- Tandis que l'usage du fil métallique bien galvanisé pour la fixation de la cire gaufrée est la règle, on constate le recourt à un fil rouillé ou de galvanisation médiocre qui libérerait d'autres produits dans les produits apicoles ;

-Si l'extraction du miel se fait généralement par un extracteur en inox, bien propre, dans la plupart des cas, au Maroc il est souvent fabriqué en métaux variés (souvent le fer) et traité à la peinture, ce qui est un procédé interdit, libérant des métaux et des composés qui portent atteinte à la santé ;

-Le stockage du miel se fait dans des futs en plastique de très mauvaise qualité, colorées car issues de différents recyclages de la matière plastique. Cette méthode affecte la stabilité, la

conservation et la sainteté du produit miel, surtout que celui-ci est de nature acide, ce qui aboutit à des diffusions, absorption, perméation, migration (PRADEAU. 2006) de différentes molécules entre le contenant et le contenu, suite notamment à la corrosion à l'interface de l'excipient. Ceci est d'autant plus important que ces réactions augmentent avec la durée de la conservation (GONNET. 1965).

-La position du rucher se trouve parfois situé aux alentours d'usines ou d'agglomérations qui manipulent des produits plus ou moins naturels et sucrés qui attirent les abeilles. Ainsi l'on a vu parfois des miels de couleurs étranges (bleus). Dans les villes marocaines nous avons constaté une certaine présence de ruchers tant au sein des villas qu'en quartiers populaires. Cette pratique oblige les abeilles à fréquenter les poubelles pendant la période de pénurie de nectar ou occasionnellement la présence de matières sucrées comme il est le cas pendant le ramadan.

Enfin des apiculteurs amateurs élèvent actuellement des abeilles sur les terrasses des maisons. Cette pratique est adoptée, intensifiée et encouragée en France, afin de préserver les abeilles de la disparition massive qui les menace en ce moment, suite aux effondrements sans précédent des colonies, attribués aux des pesticides.

3-Les matrices apicoles et la pollution :

Il est reconnu dans les études d'impact que les êtres vivants qui sont constamment présents dans un milieu (végétaux, faune aquatique,...) reflètent mieux que d'autres, qui sont de passage (animaux opportunistes ou migrants), les conditions de vie, de pollutions fréquentes, de stress et de changement physique de l'habitat. L'abeille fait partie de ces indicateurs fiables à la prospection et la collecte. Mieux encore, une ruche abrite quelques dizaines de milliers d'individus qui sillonnent durant toute la journée, et toute l'année les environs de leur résidence dans un rayon de 3 à 4 Km en quête de récoltes multiples porteuses d'indices de divers impacts. Cette qualité de l'abeille épargne aux chercheurs beaucoup de déplacements encombrants et coûteux.

L'insecte qui évolue dans un milieu à plusieurs composantes différentes est un échantillonneur multi variables. Ainsi en volant, il est pendant longtemps dans l'air à partir duquel il est imprégné de toute substance chimique. De même qu'au contact de l'eau, il prend sa part de polluants lorsqu'il s'abreuve dans les milieux aquatiques variés. Aussi par la cueillette du nectar, du pollen, miellat et de la propolis de milieux très différents et qui sont porteurs de l'empreinte de qualité de l'air, sol et de l'eau.

Les matrices marquées par la qualité du milieu sont nombreuses, allant de l'insecte lui-même et ses téguments en passant par tous les produits qu'il récolte ou qu'il secrète.

Cette méthode d'échantillonnage a des avantages par la comparaison des valeurs d'un paramètre donnée dans l'espace, suite à la réalisation de plusieurs prélèvements sur différents sites à un même moment et dans le temps par divers prélèvements dans l'année. Il est une méthode naturelle qui a été déjà utilisée pour mettre en évidence la qualité de l'air dans des villes et dans des écosystèmes plus ou moins naturels pour détecter les nouveautés émergentes.

La présence de produits étranges (métaux lourds, de pesticides et autres) dans les produits apicoles est récente. Il est important de déterminer la qualité de ces molécules et leurs effets sur le consommateur. Ces substances nous donnent aussi une idée sur la zone de production des produits de la ruche (ERBILIR et FERYAL et al. 2005). Depuis la découverte de cette spécificité de ces matrices, elles ont été fréquemment analysées et utilisées pour mettre en évidence la nature et la quantité des polluants (ČERYOVA et al. 2012, ERBILIR et ERDOGRUL. 2005, SQUADRONE et al. 2011, CHUKWUJINDU et al. 2015,...).

3-1-Les matrices apicoles supports d'analyses des pollutions :

Comme le siècle dernier a vu un essor humain sans précédent et ce suite au développement de la recherche et de l'industrie, des polluants de toute sorte, dont ceux de la chimie se sont répandus significativement dans de vastes écosystèmes (YUCEL et SULTANOGLU. 2012). Parmi ces problèmes d'insalubrité, celui de l'épandage des métaux lourds, pesticides, antibiotiques et tous les produits émergents de la consommation, que l'on retrouve à des concentrations de plus en plus élevées dans tous les compartiments (les eaux, les sols et l'air) et par conséquent ils sont transmis à la chaîne alimentaire.

Ce changement dans l'évolution des sociétés actuelles est en train d'entraîner des modifications profondes des différents milieux et n'épargne aucun secteur y compris les denrées alimentaires. Le miel ne fait pas exception, d'autant plus que c'est un produit cueilli à partir d'échantillons de nectar, émanant des fleurs butinées par les abeilles, autour d'un point de positionnement de la ruche. Cet espace peut être plus ou moins naturel mais de nos jours aucune contrée n'est censée être à l'écart des apports en polluants. Grâce à ces caractéristiques, l'abeille et les matrices apicoles ont été proposées comme des collecteurs de données de plusieurs contaminants et des indicateurs de l'état de santé du milieu ambiant. Le taux de mortalité d'abeilles survenue ces dernières années reflèterait sa qualité de biocapteur

potentiel des résidus d'insecticides et de produits végétaux génétiquement modifiés (MORENA et al. 2009, HAN et al. 2010, GOLNAR. 2016).

3-2-Les analyses courantes (standards) des propriétés d'un miel :

3-2-1-La teneur en eau et la matière sèche :

La mesure de la teneur en eau d'un miel, se fait simplement par une lecture d'un réfractomètre : une goutte de miel est déposée sur la platine du prisme du réfractomètre et la lecture se fait à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure. Cette ligne coupe une échelle verticale graduée qui traduit le pourcentage d'humidité d'un liquide à analyser (miel, vin et autres). La température du prisme est notée (GUERZOU et NADJI. 2002). Connaissant l'indice de réfraction, on en déduit la teneur en eau à partir de la table de CHATAWAY (Tableau 14 ci-dessous). Il ne peut toutefois donner ce résultat que si le miel est parfaitement liquide (LOUVEAUX, 1982).

Tableau N°14. Table de CHATAWAY (1935, d'après Guerzou et Nadji. 2002).

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0	-	-	-	-

3-2-2-Le degré de Brix :

C'est une échelle qui sert à mesurer en « degrés Brix » (°B ou °Bx) la fraction de saccharose dans un liquide, c'est-à-dire le pourcentage de matière sèche d'un sucre soluble. Plus le °Brix est élevé, plus l'échantillon est sucré. Elle est donnée par la lecture sur l'échelle de Brix. Cette donnée est approximative car elle dépend fortement du type de miel. Le degré de Brix correspond à ce que donnerait la mesure d'une solution pure de saccharose, diluée dans de l'eau distillée, avec un degré qui correspond à 1% en poids de saccharose dans la solution (GUERZOU et NADJI. 2002).

3-2-3-Le pH :

Le pH ou «potentiel hydrogène», encore appelé indice de «Sorensen», est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité ou la basicité d'un milieu. Il représente la concentration des ions H⁺ d'une solution. Selon GONNET (1985), le coefficient 7, d'une eau distillée à 22°C, correspond à la neutralité. Si supérieur à cette valeur, il est basique et si inférieur, il est acide. Il se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectars et entre 4,5 et 5,5 pour les miels de miellats. Le pH d'un miel est mesuré en solution dans l'eau à 10 % à l'aide d'un pH-mètre. (LOUVEAUX, 1985, D'après GUERZOU et NADJI. 2002).

3-2-4-L'acidité :

Tous les miels ont une réaction acide qui provient d'acides organiques, dont certains sont une composante du nectar et d'autres de miellat, mais leur origine principale est à rechercher du côté des sécrétions salivaires de l'abeille, dans les processus enzymatiques et fermentatifs (LOUVEAUX, 1968). A noter que la fermentation d'un miel provoque une augmentation de l'acidité. Une norme ancienne prescrite mentionne une valeur maximale de 40 meq/kg, alors que le projet de *Codex alimentarius*, l'a augmentée à 50 meq/kg, étant donné qu'il existe des miels de teneur naturelle plus élevée en acide.

Lors de l'analyse on considère :

a) **L'acidité libre** : Cette acidité est titrée par l'hydroxyde de sodium jusqu'au pH du point équivalent soit pHE (pont de neutralisation de tous les acides libres). L'acidité libre est exprimée en milliéquivalent d'hydroxyde de sodium nécessaire pour porter à pHE, 1000 grammes de miel, elle ne doit pas être supérieure à 50 meq/kg (Codex. 2001).

b) **L'acidité combinée** : Cette acidité correspond à l'acidité des lactones, cette acidité (combinée) est non titrable, l'acidité due aux lactones (acidité combinée) est exprimée en milliéquivalents d'hydroxyde de sodium pour 1000 grammes de miel.

c) **L'acidité totale** : L'acidité totale est la somme de l'acidité libre et de l'acidité des lactones, elle peut varier de 10 et 60 meq/kg. Le pH est mesuré sur une solution de miel 10%.

Tableau N° 15. Les valeurs de l'acidité de quelques miels (MOKEDDEM. 1998).

Miel	Acidité libre pH équivalent		Acidité combinée (lactone)		Acidité totale	
	Moyenne	Val. Limite	Moyenne	Val. Limite	Moyenne	Val. Limite
Acacia (meq/kg)	8,0	5,7 - 11,9	5,5	2,2-9,4	13,7	8,9-20,4
Colza	8,8	5,7 - 14,6	6,0	1,4-9,7	14,9	8,9-24,3
Lavande (meq/kg)	19,0	11,6 - 26,2	15,3	10,0-21,4	34,2	26,0-40,6
Romarin (meq/kg)	7,4	4,0 - 11,0	6,2	1,0-10,4	13,6	8,7-19,1
Sapin Vosges (meq/k)	25,2	17,4 - 31,2	3,4	0,4-9,0	28,7	20,4-36,9
Autres sapins (meq/kg)	19,8	14,4 - 26,2	3,0	1,0-9,0	22,9	15,8-30,6
Oranger (meq/kg)	1,21	0,7 – 16	0,99	0,4-1,4	-	1,2-3

3-2-5-Les cendres :

On appelle cendre l'ensemble des produits fixes de l'incinération d'un miel conduite de façon à obtenir la totalité des cations. L'incinération du miel est donc le procédé qui permet de connaître sa teneur en constituants minéraux, cette teneur est très variable. Celles des miels clairs sont plus faibles que celles des miels foncés. La teneur est comprise entre 0.020 et 1.028 g/100g de miel (LOUVEAUX. 1968).

La teneur en cendres est un critère de qualité qui dépend de l'origine botanique du miel. Le miel de nectar à une teneur en cendres plus faible que le miel de miellat (LOUVEAUX. 1968), ajoute que la teneur en cendres des miels est comprise entre 0,020 et 1,028%. La teneur maximale autorisée par les normes internationales est de 0,6 g/100 g, pour le miel de miellat ou un mélange de miel de miellat et de nectar. Pour un miel de châtaignier elle est de 1.20 g/100g (Codex alimentarius.1998).

Mode opératoire d'analyse des cendres :

1/Les creusets vides sont mis dans le four à 650 °C pendant quelques minutes, puis dans un dessiccateur jusqu'au refroidissement total.

2/Les creusets vides sont pesés, puis après avoir taré la balance on pèse 5g de miel et on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique ; ce qui permet d'accélérer la combustion de la matière organique.

3/Les creusets contenant le miel sont d'abord chauffés au bain-marie durant 30 minutes, ensuite ils sont introduits dans un four à 650°C pendant 18 heures, jusqu'à l'obtention de cendres blanches.

4/Après refroidissement dans un dessiccateur, les creusets sont pesés avec les cendres.

3-2-6- La teneur en sucre :

Le taux de sucre varie peu d'un miel à un autre, se situant toujours entre 70 et 80%. Quel que soit le miel, il avoisine toujours les 80%. On pourrait alors penser que les substances butinées et transformées en miel par les abeilles contiennent à peu près toujours le même taux de sucre, quel que soit l'origine florale. En fait la concentration en sucre d'un nectar peut varier énormément d'une fleur à l'autre : de 4 à 60%. La clé énigmatique est en réalité que l'abeille travaille et transforme le nectar selon le processus suivant :

a/ L'abeille amasse des substances sucrées qui sont soit du nectar de fleur, soit un miellat (Exsudat sécrété par les végétaux ou par les insectes suceur de sève tels le puceron ou la cochenille).

b/ De retour à la ruche, les butineuses passent le contenu de leur jabot aux ouvrières. Le nectar passe alors de jabots en jabots plusieurs fois de suite, s'additionnant de salive riche en enzymes permettant la transformation des sucres (saccharose à fructose+ glucose) et fluidifiant le nectar.

c/ Les ouvrières assèchent le contenu de leur jabot pendant 15 à 20 minutes, jusqu'à ce qu'il atteigne une concentration en eau située entre 40 et 50%.

d/ Elles l'étalent dans les alvéoles et le laissent à l'air libre 4 jours. Pendant ce temps, les ventileuses battent des ailes à l'entrée de la ruche pour faire circuler l'air et d'autres abeilles contractent les muscles de leur thorax pour faire monter la température du couvain jusqu'à 30°C, permettant ainsi la déshydratation progressive du miel.

e) Lorsque le miel atteint les 70 à 80 % d'eau, les abeilles ferment l'alvéole avec de la cire pour protéger celui-ci et notamment éviter sa déshydratation ou sa réhydratation.

3-2-7-La conductibilité électrique :

La conductibilité électrique présente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel. Elle est mesurée aujourd'hui lors des contrôles de routine à la place de la teneur en cendre. Cette analyse dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel. Plus elles sont élevées, plus la conductivité électrique (CE) correspondante est élevée.

La conductibilité électrique d'un miel est mesurée à 20°C d'un volume cubique de 1cm de côté d'une solution à 20% de matière sèche. C'est la mesure de la capacité de cet échantillon de miel à transmettre un flux électrique ou conductance. La mesure s'effectue à l'aide d'un conductimètre. Une cellule de conductance reliée à un potentiomètre analyse la vitesse de passage du flux électrique entre deux électrodes. Le résultat s'affiche en siemens (S). Le siemens étant l'unité de mesure de la vitesse de conductance. Conventionnellement, la conductibilité est donnée en 10^{-4} S/cm, mais ce n'est pas toujours le cas dans la réalité. En effet, les laboratoires donnent de plus en plus souvent la mesure de conductivité électrique en micro-siemens ($\mu\text{S} = 10^{-6}$) mais on donne également des résultats en millisiemens ($\text{mS} = 10^{-3}$) (Italie) ou en Ohm (f2) (grande Bretagne). Cette conductivité est d'autant plus élevée que le miel est riche en substances ionisables, telles les matières minérales. Elle est d'autant plus élevée que le miel est foncé par la présence de matières minérales (miels de miellats). (LOBREAU-CALLEN et al, 2001).

3-2-8-La densité :

La densité appelée aussi le poids spécifique. Selon LOUVEAUX (1968). Ce poids spécifique du miel est en fonction principalement de sa teneur en eau. Sa mesure se fait au moyen d'un densimètre ou le réfractomètre. Les valeurs trouvées par les différents auteurs (MARVIN. 1934, DEANS. 1953, WHITE et al. 1962) concordent de façon très satisfaisante. Selon PROST (1987), la densité de miel à 20 °c est comprise entre 1.39 et 1.44, il ajoute qu'un miel récolté trop tôt ou extrait dans un endroit humide contient trop d'eau. La densité d'un miel varie de 1,39 à 1,44 selon les types de ce produit. Ces valeurs sont données juste après extraction et bien avant la cristallisation du miel.

3-2-9- La couleur :

La couleur se détermine généralement par comparaison entre la couleur de l'échantillon et celle d'une gamme de couleur de référence (Procédé Lovobond) ou par analyse de l'intensité lumineuse perçue au travers de deux prismes, l'un coloré servant de référence et l'autre de forme identique contenant l'échantillon de miel à analyser (procédé Pfund, colore

grader), l'intensité de la coloration s'exprime, pour le procédé Lovibond, par la désignation du numéro de filtre de référence (N° allant de 30 à 850). Pour le procédé Pfund, on utilise une mesure métrique, correspondant au déplacement lors de l'examen, du chariot portant les prismes dans l'appareil, exprimé en millimètre (1,1 à 14). Il existe une table de comparaison des deux mesures où 1,1 correspond à des miels pratiquement incolores, 850 L ou 14p, à des miels presque noirs (GUERZOU et NADJI. 2002).

4-Les propriétés biologiques d'un miel :

4-1-Les bienfaits nutritionnels :

Le miel est un mélange issu du nectar des fleurs et de la salive de l'abeille. Sa composition est de : 20 % d'eau ; 75 % de glucides (fructose 38 % et glucose 31 %, notamment) et 5 % de sels minéraux, vitamines, oligo-éléments, flavonoïdes...

La composition moyenne d'un échantillon de miel est de 17-18 % d'eau, 75 % de sucres dont environ 60 % de sucres simples (glucose : 31 %, fructose : 25 % 7 %), de disaccharides (maltose : 6 %, saccharose : 1 %), 1 à 5 % de polysaccharides, moins de 3 % d'autres sucres, 7 % de protéines enzymes, albumine (1 %). Les sels minéraux dans 1 kilo : 205 à 1676 mg de potassium, 50 mg de calcium, 40 mg de phosphore, 2,4 à 9,4 mg de fer. Les oligo-éléments dont le cobalt, des vitamines, Bêta-carotène, des grains de pollen, des acides aminés, des pigments (caroténoïdes et flavonoïdes), des substances aromatiques, les polyphénols, BHA (butylhydroxyanisol, antioxydant), des facteurs antibiotiques et des levures et ferments.

L'effet prébiotique : Les prébiotiques sont des glucides non assimilables par notre organisme qui jouent un rôle dans la balance de la microflore intestinale. Le miel aurait possiblement un effet prébiotique sur le corps humain en améliorant la croissance, l'activité et la viabilité des bifidobactéries et des lactobacilles de la microflore intestinale, des bactéries importantes pour une bonne santé. Cet effet a été observé, in vitro, en utilisant un système de fermentation avec des bactéries fécales. L'effet prébiotique du miel serait en grande partie attribuable aux oligosaccharides, des sucres de faible poids moléculaire. D'autres études chez les humains doivent être effectuées avant de conclure à un effet significatif du miel sur la santé intestinale.

Effets par les flavonoïdes : Le miel est une source alimentaire d'antioxydants qui sont des flavonoïdes. Ces derniers interagissent dans la neutralisation des radicaux libres du corps, permettant ainsi de prévenir l'apparition des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et de certaines maladies neurodégénératives. La quantité et le type de flavonoïdes trouvés dans

le miel varie selon la source florale. En règle générale, les miels les plus foncés, comme ceux issus du tournesol et du sarrasin, contiennent des quantités de flavonoïdes supérieures aux miels plus pâles, ainsi qu'une plus grande capacité antioxydante. D'ailleurs, pour une même quantité, le miel possède un pouvoir antioxydant équivalent à celui de la majorité des fruits et légumes. Par contre, il est rare que l'on consomme la même quantité de légumes/fruits et de miel.

4-2-Les valeurs thérapeutiques du miel :

4-2-1-Les propriétés médicinales :

Les propriétés médicinales du miel varient selon les nectars recueillis par les abeilles, puisque son activité a deux sources : animale (salive des abeilles) et végétale (nectar et miellat). Les différentes propriétés du miel sont nombreuses : émollient, fébrifuge, laxatif, hypotenseur, cardio et hépatoprotecteur, sédatif et cicatrisant. Il réduit l'acidité gastrique dans les cas d'ulcères et soulage la toux. Son utilisation dans le domaine de la santé fait l'objet depuis quelques années de recherches approfondies (FRERE. 1985, TOULLEC. 2008). Le pouvoir laxatif doux du miel repose sur sa forte concentration en fructose, ce sucre provoquant un appel d'eau osmotique dans la lumière intestinale (FRERE.1985, TOULLEC. 2008). L'action cardiotonique du miel est due à une substance sécrétée par l'abeille ; de plus la présence d'un facteur cholinergique (acétylcholine) aurait une fonction de ralentissement et de régularisation du rythme cardiaque (FRERE.1985). Le professeur CHERBULIEZ (2003), qui a beaucoup travaillé à Cuba en milieu hospitalier avec les différents produits de la ruche, expose l'intérêt de l'utilisation du miel en aérosol (quantité identique de miel d'acacia et de sérum physiologique) lors de bronchites chroniques (FRERE.1985). Le miel est un excellent cicatrisant, qu'il soit appliqué sur les blessures ou sur les brûlures. Au C.H.U. de Limoges, la cicatrisation est en moyenne de 0,78 cm² par jour au traitement au miel, contre 0,39 cm² avec un simple pansement-gaze et 0,42 cm² avec le Debrisan. Plusieurs études, réalisées aux Etats-Unis, en Allemagne, en Argentine et en Roumanie ont confirmé ces excellents résultats. Le seul inconvénient semble être la sensation de brûlure au début du traitement (FRERE.1985). L'action énergétique du miel favorise la multiplication cellulaire et améliore l'aspect des tissus cicatriciels, elle procure un gain de 30 à 50 % sur le temps de guérison (FRERE.1985).

4-2-2-Propriétés antibactériennes du miel :

Il a été clairement démontré que plusieurs mécanismes sont impliqués dans les propriétés antibactériennes du miel et agissent en synergie, notamment l'osmolarité, le pH

acide, le système peroxyde d'hydrogène (inhibine) et la présence de facteurs phytochimiques, de défensine-1 et de méthylglyoxal. De plus, de nombreux travaux scientifiques démontrent que le miel présente des activités spécifiques favorisant les différentes phases nécessaires à la cicatrisation. Il a, plus particulièrement, un effet positif sur le débridement et une action modulatrice sur l'inflammation, favorisant ainsi la formation du tissu de granulation (COUQUET et DESMOLIERE. 2013). Ainsi le miel peut être utilisé pour favoriser la cicatrisation, notamment celle des plaies aiguës. En fonction de la cause et de la localisation de la lésion cutanée, du caractère de la plaie, des situations très différentes peuvent être rencontrées. Aussi le traitement doit-il être adapté à chaque type de lésion. Il est extrêmement important de savoir analyser une plaie afin d'envisager quelle peut être son évolution (BARITAUD et al. 2013).

Des travaux publiés soulignent que le miel, utilisé en application locale sur la peau et les muqueuses de la tête et du cou en cas de plaie, pharyngostome et/ou brûlures ainsi que par voie générale comme antitussif (après la première année de vie) a une réelle efficacité thérapeutique sans effet néfaste. Le mode d'action du miel repose sur l'association de plusieurs mécanismes (effet osmotique, effet détersif, effet bactéricide) (WERNER et LACCOURREYE. 2011).

4-3-Propriétés laxatives du miel :

Le miel agit également sur la sphère digestive. Il possède des propriétés diurétiques, laxatives qui aident à lutter contre les constipations passagères.

5-Autres propriétés :

5-1-La Cristallisation des miels :

Tous les miels ont une tendance à cristalliser avec le temps ce qui est un processus naturel. Leur teneur en sucre et les basses températures contribuent à l'accélération de la cristallisation. A notre connaissance seul le miel « monofloral » de thym du centre du Maroc (région de Haha), a tendance à rester liquide et l'on n'a jamais vu sa forme cristalline. Certains miels aboutissent à de gros cristaux.

5-2-Toxicité rare de certains miels :

Enfin des miels peuvent s'avérer toxiques par la nature même du nectar ramassé, mais ce sont des cas rarissimes (miel de Rhododendron, de Datura stramoine, de certaines Ericacées).

V-Les principaux polluants dans le miel :

1-Les ETM dans le miel :

Suite aux études palynologiques du miel (BATTESTI. 1992, GOEURY. 1992, DEFORCE. 2010, BELAY et al 2015,...) et a ses analyses chimiques, il s'est avéré que ce produit miel, prenait sa part de contaminants, soit directement à partir des eaux non propres, consommées par les abeilles, soit indirectement via le passage de ces éléments dans le nectar des plantes ou suite au dépôt d'aérosols ou des gaz de l'air sur les fleurs. Le miel est alors devenu un produit de laboratoire, un bioindicateur de la qualité du milieu (BONTE et DESMOULIERE. 2013, RODRIGUES et al. (2003),...), surtout en ville où il a été utilisé comme indicateur de la qualité de l'air et de la pollution. Il a été suggéré par Makarochkin et Yudenich (2002), que la composition du miel peut indiquer le contenu élémentaire du sol sur lequel des espèces végétales butinées par les abeilles ont produit le nectar. Il semble n'y avoir aucune raison pour que le miel ne soit pas utilisé comme un indicateur de la prospection minérale d'un milieu. Les abeilles butinent généralement à 1-4 km, à vol d'oiseau, le nectar dont elles produisent le miel. Celui-ci est donc caractéristique de l'environnement local balayé à quelques km² (BRAZIEWICZ et al. 2002). Les teneurs en métaux des pelotes de pollen recueillies par les abeilles ont été déterminées dans les zones en relation étroite avec des concentrations connues en métaux lourds dans le sol. Le manganèse, le zinc, le cuivre, et le plomb, contenues dans des pelotes de pollen reflètent ceux de l'environnement, ce qui indique que les colonies d'abeilles peuvent être utilisées pour échantillonner des zones à analyser (FREE et al. 1993).

A ce titre, le miel est la matrice apicole la plus étudiée quant à la contamination par les métaux. (LAMBERT et al. 2012a) Ces teneurs en plomb sont supérieures à celles retrouvées par PRZYBYLOWSKI et WILCZYNSKA (2001), FREDES et MONTENEGRO (2006), TUZEN et al. (2007), PISANI et al. (2008), ACHUDUME et NWAFOR (2010) et BILANDZIC et al. (2011).

C'est ce qui nous a poussés à s'intéresser à cet aspect dans une zone où les plans d'eaux usées sont non seulement en grandes surfaces à l'air libre, mais aussi ils sont utilisés sans traitement dans l'agriculture périurbaine. Dans cet environnement, l'eau brute utilisée directement ou via le pompage de la nappe phréatique elle-même contaminée.

2-Les pesticides dans le miel :

Ce sont des produits chimiques très largement utilisés. Beaucoup sont volatiles et peuvent atteindre des régions très lointaines de leur lieu d'application.

2-1-Les différentes voies de pénétration des pesticides dans une ruche :

Une colonie d'abeilles est l'image de son voisinage sur un rayon de 4 km à vol d'oiseau. Une ruche peut être plus ou moins contaminée par des produits phytosanitaires de différentes manières dans l'ordre décroissant suivant :

- Par le traitement de la ruche, obligatoire, et de prévention de la Varroa, une fois par an, en automne ou rarement contre une autre maladie.
- En butinant des agroécosystèmes traités aux pesticides ;
- En visitant des jardins d'habitations dont les plantes sont généralement traitées contre les insectes ;
- En consommant de l'eau d'égouts, des stations d'épuration et cas similaires qui véhiculent bon nombre de produits de synthèse (les abeilles ont un préferendum pour les eaux insalubres riches en matière organique et tièdes) ;

A partir de traitements effectués par l'apiculteur lui-même, vraisemblablement la voie la plus importante d'entrée de ces produits dans la ruche, vues les concentrations saisonnières appliquées à la ruche, notamment et surtout lors du traitement annuel obligatoire du varroa (Le varroa est un arthropode minuscule, parasite les abeilles qui les prive d'ailes et décime ainsi la colonie), les quantités cumulées dans la cire contaminée et recyclée le long des années. Différentes molécules de synthèse sont d'usage dans cette opération. La plupart des traitements utilisés contre le Varroa sont toxiques, également pour les abeilles, mais la dose reste sublétales. Ces substances ont été retrouvées à des concentrations élevées dans des rivières notamment aux USA. Les molécules de traitement les plus universellement répondues en apiculture sont : le fluvalinate (apistan), le coumaphos (asuntol ND), l'amitraz (apivar), thymol (apiguard), et l'acide oxalique.

Les pyréthrinés et pyréthroïdes qui sont des pesticides naturels, extraits de fleurs de certaines plantes (pyrèthre) et utilisées dans le traitement du varroa ont été détectés à des concentrations importantes à la sortie des stations d'épuration (en particulier la bifenthrine et la cyfluthrine) (WESTON et al. 2015, d'après MACQUERON «Futura-Science, 2010»). Ces

substances sont devenues sujet à une redevance pour pollutions diffuses en France (JORF. 2009). La présence de ces nombreux pesticides de toutes sortes, dans les rivières et les STEP, les met à la disposition des tous les usagers de ces eaux y compris les abeilles. La présence de grandes étendues de ces eaux dans la zone de rejet d'une agglomération et au sein d'une plaine de grande monoculture ne peut que renforcer les concentrations entrantes dans ces écosystèmes.

2-2-Mode d'extraction des pesticides à partir du miel :

L'extraction d'un pesticide d'une matrice quelconque est une opération compliquée, longue et coûteuse du fait que chaque molécule phytosanitaire requière une méthodologie appropriée pour sa dissolution, d'abord dans un solvant spécifique, pour former le complexe avec la molécule du pesticide avant son extraction proprement dite. Les méthodes de séparation, extraction et de quantification des pesticides sont extrêmement variées : chromatographie en phase gazeuse, détection par photométrie de flamme, la détection au phosphore d'azote, détection à l'ionisation à la flamme, spectrométrie de masse, chromatographie à haute-Performance liquide et détection aux barrettes de diodes. L'HPLC-Orbitrap-MS aux analyses multiples est un moyen efficace pour permettre la détection et la mesure de la masse exacte d'un large éventail de résidus à faible niveau de concentration dans les matrices d'échantillons complexes (MAKAROV. 2006, LUZ et al. 2012). En effet des chercheurs ont démontré que de faibles niveaux de pesticides tels que les insecticides pyréthrinoïdes et néonicotinoïdes, peuvent induire des effets sublétaux pour les abeilles (HENRY et al. 2012, BORTOLOTTI et al. 2003, EL HASSANI et al. 2008, YUANBO et al. 2015). Alors des méthodes d'analyses ont été développées pour la détection des pesticides, au niveau simple (une à deux matrices) dans les produits de la ruche comme le miel, le pollen, la cire et les abeilles ((GIROUD et al. 2013, GARCIA-CHAO et al. (2010), BARGANSKA et al. (2014), ZHANG et al. (2013), CHEN et al. (2013), YANEZ et al. 2013, NIELL et al. 2014, ZACHARIS et al. 2012, SANCHEZ-BRUNETE et al. (2012), YUANBO et al. (2015)).... D'autres méthodes d'analyses de pesticides, entre autres, dites multirésidus, censées être rapides, fiables mais tenant compte de l'ensemble des produit phytosanitaires en même temps, sont d'usage de nos jours. La méthode QuEChERS en est une (ANASTASSIADES et LEHOTAY. 2003, SIWWEON et al. 2015), pour avoir une idée des concentrations globales dans une matrice. Une autre méthode d'analyse de résidus multiple a été utilisée par d'autres chercheurs (KASIOTIS et al. 2015). L'on peut ainsi analyser la quantité totale de pesticides, toutes sortes confondues, et avoir une idée de la contamination globale.

3-Les antibiotiques dans le miel :

3-1-D'origine externes à la ruche :

Les apports d'antibiotiques exogènes à la ruche ont été signalés depuis du temps : « Les résultats montrent la présence de résidus de tétracycline dans certains échantillons à des teneurs parfois élevées, ce qui entache l'image de marque du miel. Il ressort de cette étude que la recherche de résidus de contaminants devrait être prise en compte dans les règlements des concours et que l'harmonisation des méthodes d'analyses est indispensable » (MARTEL et al. 2009).

Les résidus d'antibiotiques présents dans les denrées alimentaires d'origine animale sont les traces de traitements médicamenteux antibiotiques reçus par l'animal de son vivant. La définition de résidus est codifiée dans une directive européenne (DIRECTIVE 81/851/CEE, 1981). Dans cette Directive, les résidus sont définis comme étant « tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré » (STOLTZ. 2008).

Pour identifier les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale (France) on a recourt à :

- Soit des tests microbiologiques qui utilisent le principe de la croissance bactérienne ; ce sont des méthodes bactériennes encore appelées méthodes d'inhibition,
- Soit des tests qui se basent sur une analyse physico-chimiques, tel que la chromatographie en couche mince, la chromatographie en phase liquide ou la chromatographie en phase gazeuse, des techniques enzymatiques ou des techniques immunologiques (FERGUSSON et al. 2002).

3-2-Méthodes de détection des résidus d'antibiotiques dans le miel :

Il existe actuellement deux méthodes pour analyser les antibiotiques :

- Une moins qualitative, coûteuse, est le screening, qui montre les échantillons positifs ;
- L'autre, la plus onéreuse, est une méthode quantitative qui mesure exactement la quantité d'antibiotiques.
- Enfin une méthode de confirmation à l'analyse HPLC.

Il existe quatre méthodes différentes sont actuellement disponibles pour détecter les antibiotiques :

3-2-1-Méthode qualitative par des tests microbiologiques :

Ces tests, consistent à détecter la présence des antibiotiques en utilisant des souches bactériennes sensibles envers des antibiotiques spécifiques. Ces bactéries sont cultivées sur un milieu de culture avec différentes valeurs de pH, en présence des substances qui bloquent ou catalysent l'action de certains antibiotiques. Ces tests détectent de nombreux antibiotiques à des seuils généralement très proches de la limite maximale de résidu (LMR). Ils sont des tests de qualité (présence ou absence) mais avec un seuil connu :

□ La méthode de 4 boîtes (Four plates test (FPT)) :

Ce test est composé de quatre boîtes dont trois utilisent *Bacillus subtilis* à différentes valeurs du pH (6, 7, 4 et 8) et la quatrième utilise *Micrococcus luteus* à un pH égal à 8. A partir du diamètre et des caractéristiques de la zone d'inhibition (figure 5), nous ne pouvons pas avoir une idée sur la concentration du métabolite existant dans l'aliment analysé.

L'échantillon n'est considéré positif (présence d'antibiotique) que si le diamètre de l'anneau d'inhibition est supérieur à 2 cm. La composition et la propriété du milieu utilisé en FPT influencent la limite de détection, en particulier le pH qui est un facteur très important.

□ Tests commerciaux

De nombreux tests existent sur le marché, mais sont surtout consacrés aux analyses du lait. Très performants vis-à-vis des pénicillines, des sulfamidés et des tétracyclines, mais sont insuffisamment sensibles pour les autres familles. Parmi les principaux tests utilisés pour la détection des antibiotiques dans le lait on peut citer le Delvotest et Br Test se sont des Kits commercialisés prêts à l'emploi, à spectre très large.

. Beaucoup des copies de ces tests existent (Copan, Eclipse...). Tous ces tests utilisent la même bactérie : *Bacillus stearothermophilus*. (Bactérie très sensible à de nombreux antibiotiques parmi lesquels nos substances d'intérêt, les sulfamides).

Un autre test est utilisé pour la détection des antibiotiques dans la viande est le premier test. Il est simple, à large spectre et permet une détection rapide des plusieurs substances antimicrobiennes dans les denrées alimentaires (viande, poissons, œufs ...). Son principe est basé sur l'inhibition de l'activité de *Bacillus stearothermophilus*.

□ Les tests rapides :

Ces tests utilisent des technologies différentes. Ils fournissent une analyse de la qualité en quelques minutes (présence ou absence) permettent d'effectuer «Les tests libératoires» : le lait recueilli dans les camions est testé avant et en cours de déchargement.

Parmi les tests les plus souvent utilisés pour une détection rapide des antibiotiques sont :

- **Penzym test** : test enzymatique et colorimétrique. Une enzyme (DD carboxypeptidase) est inhibée par la présence du bêta-lactamine.
- **Delvo-X-PressM BL** : immuno-enzymatique test basé sur un dosage par colorimétrie de l'excès d'un réactif donné.
- **Betastar** : test basé sur l'utilisation d'un récepteur spécifique lié à des particules d'or. Ces récepteurs migrent différemment sur une bande selon qu'ils sont liés à des antibiotiques bêta-lactamines ou pas.
- **Snap** : utilise une méthode immuno-enzymatique. Les récepteurs peuvent être liés soit à l'antibiotique (s'il est présent) ou aux antibiotiques fixés à la surface de test.
- **Les tests immunologiques** : Sur le marché les immuno-essais décrits pour l'analyse des antibiotiques sont réparties en deux groupes : les tests RIA (Radio ImmunoAssay) et les tests ELISA (Enzyme-LinkedImmuno-SorbentAssay).

3-2-2-Méthode quantitative :

Au début des années 1980, les progrès techniques ont permis un bond spectaculaire dans les méthodes de détection avec notamment le développement de la Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC). Ceci permet la recherche et la quantification d'une molécule donnée. C'est la raison pour laquelle tout résultat positif obtenu ainsi par un test, est systématiquement validé ensuite par l'HPLC.

Diverses méthodes d'analyses d'antibiotiques dans le miel ont été développées, entre autres, la spectrophotométrie d'analyse par injection séquentielle pour évaluer la tétracycline, la chlorotétracycline et l'oxytétracycline (THANASARAKHAN et al. 2011), et par des protocoles dits QuEChERS (SHENDY et al. 2016) et d'autres.

Cependant la présence de ces produits dans un miel, est-elle d'origine environnementale ou s'agit-il d'une contamination humaine ? Leur détection assez significative dans les eaux usées, la consommation de ces eaux par les abeilles ainsi que leurs résultats dans les miels y compris les nôtres met en relief un apport probable à partir des eaux usées.

3-2-3-Limites maximales des résidus, LMRs dans le monde :

Le traitement par les antibiotiques n'est pas permis en Europe. Par conséquent, la limite maximale des résidus n'a pas de raison d'être définie dans la majorité des pays européens. Il résulte alors que le miel contenant les antibiotiques n'est pas autorisé sur le marché. Et comme aucun antibiotique n'est permis, aucune LMR n'est établie. Toutefois, certains pays, tel que la Suisse, le Royaume-Uni et la Belgique, ont mis en place des limites d'action, qui se situent généralement entre 0,01 et 0,05 mg / kg pour chaque groupe d'antibiotiques. Selon l'avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), du 18 septembre 2002 concernant l'évaluation du risque éventuel lié à la présence de résidus de tétracyclines et de streptomycine dans le miel, elle a pu évaluer les LMRs à 77 ppb pour les tétracyclines et à 46,25 ppb pour la streptomycine.

La présence de quantités importantes d'antibiotiques dans le miel, aurait un impact négatif chez le consommateur. Personne n'est en faveur de la mise en place de LMR pour les antibiotiques, mais plutôt pour leur absence totale.

Pourtant l'analyse de 74 échantillons de miel de différentes origines botaniques et provenance géographique variées et collectés sur le marché italien, a montré que dans neuf miels (12%), les concentrations de sulfamides ont été confirmées. Un total de 27 médicaments de base, appartenant aux familles sulfonamide, nitroimidazole et quinolone ont été déterminés (GALARIN et al. 2015). D'autres études de miel hydrolysé ont révélé que neuf antibiotiques sulfonamides pertinents peuvent être détectés avec des seuils de détection inférieures aux limites d'action établies par certains pays de l'UE (Belgique, 20 µg kg⁻¹, Royaume-Uni ou Suisse, 50 µg kg⁻¹) (MURIANO et al. 2015).

4-Le miel et les microorganismes :

4-1-Le miel, un antibactérien :

De nombreuses études ont été consacrées à l'appui de l'idée très antique, se retrouvant notamment dans le Saint Coran, qui attribue au miel des propriétés de guérison et des facultés de cicatrisation. Une activité puissante du miel a été observée, in vitro, vis-à-vis de

l'inhibition de la croissance des bactéries (COUQUET et al. 2013, BRISCHOUX et al. 2013). Cette propriété serait due, selon les auteurs, à certaines propriétés de cet aliment dont surtout l'osmolarité vis-à-vis des concentrations élevées en sucres, le système peroxyde d'hydrogène, le pH acide et des composés phytochimiques entres autres (COUQUET et al. 2013). Elle ne peut être due à un de ces facteurs seul, mais plutôt à leur synergie (KWAKMAN et ZAAT. 2012).

4-2-La contamination microbienne du miel (bactéries et protozoaires) :

4-2-1-Par les bactéries :

La manipulation du produit miel est très délicate et variée et peut souvent être à l'origine de contaminations diverses. Les études de la contamination microbienne des miels sont rares et sont essentiellement consacrée à *Clostridium botulinum* (GOMES et al. 2010) en raison de la maladie qu'il provoque chez le bébé. D'autres auteurs se sont intéressés à ce domaine (TYSSET et al.1970, ROUSSEAU. 1981, ROOT. 1983, NAKANO et al. 1990, PIANA et al. 1991, IURLINA et FRITZ. 2005). Des bactéries dans un miel peuvent provenir de sources primaires à la récolte, comme le pollen, les voies digestives des abeilles, de la poussière, du nectar contaminé, et d'autres sources, qui sont très difficile à contrôler (PUCCIARELLI et al. 2014). Dans ce cas leur fréquence est d'habitude faible. Elles peuvent avoir comme origine des sources secondaires, supposées anormales et insalubres, dues aux pratiques malsaines au moment de post-récolte pouvant contaminer le produit : exposition à l'air, la manutention non qualifiée et impropre, la contamination croisée, l'équipement et les bâtiments insalubres, etc...

Les micro-organismes qui peuvent être rencontrés dans les produits de la ruche ont deux origines différentes : une flore habituelle, mésophile et mycélienne et un microbisme occasionnel, résultat des manipulations nécessaires au conditionnement. De nombreuses recherches ont été menées sur la flore intestinale de l'abeille et de sa larve (BORCHERT (1966), GILLIAM et al. (1987), TYSSET et al. (1968) et sur les micro-organismes qui colonisent le pollen ramené à la ruche (GILLIAM. (1979 a et b), GILLIAM (1987). Ces recherches ont mis en évidence une importante flore banale constituée de bactéries, levures et champignons, largement répandus dans la nature (sur les végétaux, le sol, dans les eaux), comme *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* et, moins fréquemment, *Clostridium botulinum* (FENICIA et al. 1993, HUHTANEN et al.1981, NAKANO et al 1991, ainsi que des entérocoques plus spécifiques d'homéothermes, hébergés à titre transitoire par l'abeille

(TYSSET et ROUSSEAU. 1968). Ces microorganismes ramenés dans la colonie peuvent se retrouver sur les rayons et les parois de la ruche. Quant à la flore occasionnelle, elle a été mise en évidence par des recherches systématiques sur des échantillons de miels du commerce (TYSSET et ROUSSEAU (1961), TYSSET et al (1970), TYSSET et al (1973)). Des recherches font état de présences de coliformes dans le miel et de valeurs normalement admises (MIROSLAVA et LUBOMIRA (2001)) : les échantillons de cube de miel se sont révélés positifs aux bactéries coliformes et même au Staphylocoque.

D'une manière générale, le miel est un milieu hostile à la croissance des bactéries pathogènes d'origine alimentaire. Sa propriété bactériostatique et bactéricide est reconnue (IURLINA et FRITZ. 2005). Cependant, des spores et des formes latentes végétatives peuvent être présentes en raison de la pollution primaire et / ou secondaire (AMADA. et al. 2014). Certains microbes plus que d'autres (Bacillus, Clostridium, Staphylococcus, Enterococcus, E. coliand, Salmonella. Clostridium spp et de Bacillus spp), sont les genres les plus répandus et peuvent exister dans des miels et ce grâce à leur capacité de sporulation et une probable contamination primaire ou secondaire notamment via l'air. Les coliformes fécaux et la Salmonella sont généralement absents (GOMES et al. 2010) ce qui n'est pas le cas dans notre analyse.

4-2-2-Par les protozoaires :

Ce sont des êtres unicellulaires dont certains sont parasites notamment de l'Homme chez qui ils peuvent causer des maladies parfois graves. C'est l'exemple de Giardia.sp., qui cause une diarrhée douloureuse. Les protozoaires peuvent se trouver accidentellement dans un miel, véhiculés à partir d'un point de contact entre l'abeille et le protiste (pollen pourri ramassé par terre ou sur des fleurs fanées et pourries, par exemple).

4-2-3-Par les champignons et levures :

Ce sont des champignons uni ou pluricellulaires. Les premiers sont des mycètes hétérotrophes que l'on retrouve partout à la surface de la matière organique. Les spores libérés par les « moisissures » peuvent provoquer des réactions allergènes et des irritations respiratoires ou cutanées en plus des toxines secrétées qui empoisonnent l'hôte. Les seconds sont des champignons unicellulaires qui ont un grand rôle dans les processus naturels et les procédés industriels. Ils peuvent être identifiés dans un miel mais ne présentent pas un danger de maladie.

4-2-4- Par les virus :

Ce sont des unicellulaire, agent infectieux nécessitant un hôte, souvent une cellule. Plusieurs espèces de virus se rencontrent et se multiplient dans le transit humain ou animal et se retrouvent par conséquent dans les matières fécales. Dans le milieu extérieur ces micro-organismes sont en état de résistance et ne peuvent se diviser. Les virus sont adaptés à la vie dans un milieu typique et ne sont pas viables en dehors de ce milieu. Dans un miel leur présence est synonyme d'une contamination secondaire qui ne représente aucun danger.

Chapitre II-Materiel et méthodes :

1-Les ETM dans le miel :

1-1-Echantillonnages des miels (lot 1 et 2) :

Nous nous sommes procuré un lot 1 de miels de 10 échantillons (2014), chez les paysans dans deux zones où il y a quelques ruches, le long de l'axe Sidi Laidi-Berrechide (Figure 12). Ces deux points, distant d'environ 40 Km, sont les plus proches des « mares » d'eaux insalubre. En effet ce segment est connu par la présence d'importantes plages d'eaux usées brutes à l'air libre, dont les plus impressionnants sont les bassins de stockage des eaux industrielles émanant de plus d'une centaine sociétés et la STEP au Nord-ouest de la ville de Berrechide. Un prélèvement complémentaire de lot 2 de 20 échantillons a été effectué l'année suivante, le plus proche possible des poches de pollution, notamment dans les alentours de Sidi-Laaidi où aboutissent les eaux de la ville de Settât avant épuration (Figure 12 ci-dessous).

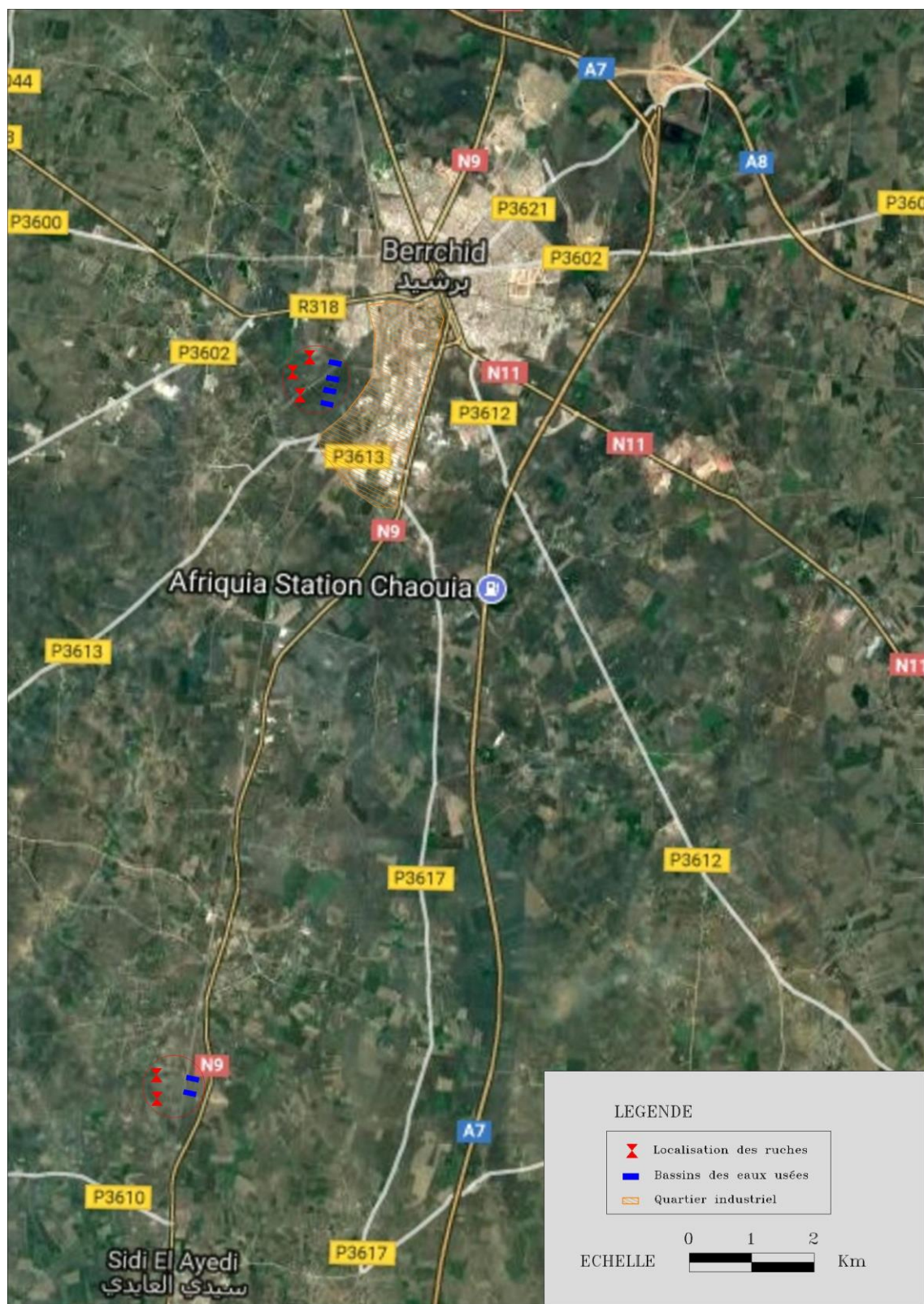


Fig N° 12. Image satellite de la zone de prélèvement des échantillons de miels.

1-2-Préparation pré-analytique et protocole d'analyse du lot1 de miels pour une analyse ICP :

Les analyses ont été faites avec la même technique précédemment décrite et dans les mêmes laboratoires de l'UTARS sauf que avant de passer aux analyses et étant donné que le miel est un liquide visqueux incompatible avec les techniques ICP, il fallait procéder à la minéralisation du produit selon littérature (DHAHIR et HEMED. 2015), avant de le remettre en solution de nouveau :

Un gramme de chaque échantillon de miel a été placé dans creuset en porcelaine et mis au four. La température est alors augmentée lentement à partir de la température ambiante jusqu'à 450° C en 1 heure. Les échantillons sont restés à cette température pendant 5h, réduits en cendres jusqu'à ce qu'un résidu blanc ait été obtenu. Le résidu a été ajouté à 5 ml de HNO₃ (25% v / v) et le mélange a été chauffé lentement pour le dissoudre. La solution a été transférée dans une jauge de 10 ml et complétée à l'eau déminéralisée. Un condensé témoin a été réalisé de la même façon.

1-3-Analyse par absorption atomique des ETM dans le lot2 de miels :

1-3-1- Préparation et protocole d'analyse

Les préparations des échantillons ont été effectuées conformément aux méthodes décrites (MILLER-IHLI et GREENE. 1993, MILLER-IHLI. 1994, VINAS et al.1997 et 2000) à savoir : Un g de miel est traité avec 0,5 ml de d'acide sulfurique 50% et placé dans des creusets de platine. Tous les échantillons ont été mis dans des creusets de platine sèche-incinéré dans un four à moufle Thermicon P (Heraeus, Hanau, Allemagne) à 120 °C pendant 1,5 h, puis à 350 °C pendant 1 h et 750 °C pendant 7 h. Les cendres ont été traitées avec 0,25 ml de l'acide nitrique concentré et 0,2 ml d'eau bidistillée. Enfin, la solution résultante était diluée avec 5 ml d'eau bidistillée. 20 ml ont été injectés directement dans le four.

1-3-2-Mesure par absorption atomique :

Les températures pour le séchage, la minéralisation, l'atomisation et le nettoyage sont 100 °C, 500 °C, 2300 °C et 2700 °C, respectivement. La largeur de bande spectrale était de 0,7 nm. Le gaz de purge, argon, a été interrompue pendant l'atomisation, ce qui a amélioré la sensibilité. La détermination des métaux lourds a été réalisée par comparaison avec une courbe d'étalonnage.

2-Analyses des pesticides et des antibiotiques dans les échantillons de miels :

2-1-Notion d'analyse multirésidus :

Les résultats d'analyses en pesticides et en antibiotiques sont réalisées par la méthode « multirésidus ».

Depuis des années il y a de nouveaux défis analytiques à cause de l'augmentation des résidus dans les milieux, de matrices complexes, de la toxicité croissante, de la praticité sur le terrain et le souci de sauvegarde du milieu environnant. De ce fait, plusieurs méthodes d'analyses dites multi-résidus ont été mis au point pour un but d'avoir la rapidité, l'efficacité, fiabilité et le moindre coût (QuEChERS (Quick, Easy, Effective, Rugged and Safe)) surtout en phases liquide/liquide avec l'usage d'un solvant d'extraction et une analyse par chromatographie. On entend par résidus : Les pesticides, médicaments, hormones, ETM, hydrocarbures, leurs métabolites et leurs dégradés dans les matrices agroalimentaires ou une matrices environnementales (SALVIA et al. 2011). La méthode QuEChERS est une technique récente, dont les premiers travaux ont été effectués par Anastassiades et al. 2003, pour l'analyse des pesticides dans les fruits et légumes. Elle est basée sur le principe d'une extraction liquide-liquide avec un solvant organique en présence de sels et de tampons pour l'analyse de pesticides, et autres substances, dans les aliments (SALVIA et al. 2011). Elle a été appliquée dans plusieurs travaux d'extraction de pesticides à partir de la matrice miel (LAMBERT. 2012, PARADIS. 2012) et a permis de déterminer les analytes cibles à des concentrations inférieures au ng/g. Elle a été étendue à l'analyse de résidus dans plusieurs matrices telles les sols contaminés par des épandages de lisiers, de boues de station d'épuration ou de retombées atmosphériques, les tissus d'animaux et autres. Une expertise pour savoir si la méthode est fiable a été réalisée (INERIS et al. 2014), pour l'extraction de sept solvants ou mélange de solvants et la conclusion était « la méthode de traitement par QueCHERS peut être utilisée pour la quantification des contaminants. Cette méthode de préparation pourrait également être facilement utilisée dans le cadre de l'analyse préliminaire d'échantillons de sédiment, dans le but de connaître globalement le niveau de pollution pour chaque famille de composés » (INERIS et al. 2014). Nous en concluons que la technique est fiable pour ce qui est de la détermination globale d'un groupe de soluté.

L'analyse de multi-classes est un moyen adéquat pour détecter les médicaments, différents pesticides dans un soluté notamment l'eau, le vin, le miel liquéfié, huiles

essentielles, les fruits et autres produits, avec un rapport coût-efficacité d'analyse nettement bas. Ainsi étaient déterminés des composés de médicaments vétérinaires par analyse multi-class dans du miel, à de proportions suivantes: les sulfamides (35%), les tétracyclines (15%), les nitrofuranes (13%), lincomycine (13%), les aminosides (10%), les nitroimidazoles (8%), les macrolides (5%) et les quinolones (3 %) (GALARINI et al. 2015). Une de ces multitudes méthodes d'analyses multi-résidus est le test SupelMIP SPE-Fluoroquinolones (Cartouches polymère à empreintes moléculaires pour l'extraction des analytes à l'état de traces dans des matrices complexes), permettant l'extraction plus simple de résidus de fluoroquinolones (FQL) de certains produits alimentaires notamment dans le miel (MANUS. 2008). Les supports SupelMIP SPE sont constitués de polymères hautement réticulés, conçus pour extraire un seul analyte d'intérêt ou une classe d'analytes structurellement apparentés avec un très haut degré de sélectivité.

2-2-Protocole d'analyses :

Pour l'analyse des pesticides, nous avons utilisé la norme européenne spécifique : la méthode permettant le dosage des résidus phytosanitaires et de polychlorobiphényles (PCB), dans des aliments (méthode H basée sur le dosage par chromatographie haute performance en phase liquide (HPLC)). Celui-ci est un système binaire de Hewlett Packard modèle 1090, muni d'un détecteur à barrette de diodes. La colonne analytique de 0,25-0,46 cm, Supelco silTM ABZ + (Supelco), est de type phase inverse avec une granulométrie de 5 mm. La température de la colonne est de 40°C. La phase mobile est un mélange eau-acétonitrile. Afin d'obtenir une bonne résolution en conservant une durée d'analyse raisonnable, deux programmes de gradient d'élution s'imposent :

- Conditions 1 : 25 % d'acétonitrile (CH_3CN) au temps initial, puis augmentation de 0,5 % par minute.
- Conditions 2 : 65 % CH_3CN au temps initial, puis augmentation de 0,5 % par minute. Le débit de la phase mobile est de 1 ml/min et le volume d'injection de 50 µl. La détection se fait à une longueur d'onde de 220 nm. La concentration réelle de l'échantillon doit donc être analysée de manière précise.

VI- Analyses microbiologiques de la « matrice » miel :

1-Protocole d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires (ici le miel) :

Le contrôle microbiologique comprend le dénombrement :

- De la flore totale aérobie mésophile (FMAT) ;
- Des coliformes totaux et fécaux ;
- Des anaérobies sulfito-réducteurs ;
- Du *Staphylococcus aureus* ;
- Recherche de Salmonella dans 25 g ;
- Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* ;
- Dénombrement de levures et moisissures.

2-Les méthodes de détection des micro-organismes indicateurs et pathogènes :

Il existe trois méthodes de mise en évidence des microorganismes en microbiologie :

2-1-Les méthodes d'énumération :

Basées sur la mise en culture : ce sont méthodes traditionnelles mais encore utilisées de manière systématique pour le contrôle en routine de la qualité microbiologique. Deux grands types de méthodes :

- + La détermination du nombre le plus probable (NPP) ;
- + La méthode de filtration sur membrane (MF).

2-2-La méthode enzymatique :

C'est une méthode d'évaluation rapide de la teneur en *E. coli*.

2-3-Les méthodes moléculaires :

Les méthodes moléculaires présentent l'avantage d'être rapides et spécifiques ; elles ne nécessitent pas d'étape de mise en culture mais présentent l'inconvénient d'être chères. De plus, certaines ne font pas toujours la distinction entre les bactéries vivantes et mortes.

Les méthodes traditionnelles pour la détection des coliformes se basaient sur la technique de fermentation en tubes multiples (MTF) et le filtre à membrane (MF) technique utilisant différents moyens spécifiques et des conditions strictes d'incubation. Ces méthodes ont des limites, telles que la durée d'incubation, l'ingérence de l'organisme antagoniste, manque de spécificité et une mauvaise détection de micro-organismes viables à croissance lente mais non cultivables. Aujourd'hui, la technique de filtration sur membrane simple, peu coûteuse, est la méthode la plus largement utilisée pour le dénombrement des coliformes dans l'eau potable (ROMPE et al. 2002). Par contre la détection de coliformes sur la base de l'activité enzymatique spécifique a amélioré la sensibilité de ces méthodes. Les enzymes β -galactosidase et β d-d glucuronidase sont largement utilisés pour la détection et le dénombrement des coliformes totaux et de *E. coli*, respectivement, avec des chromogènes et fluorogènes spécifiques pour la détection de ces activités enzymatiques, qui peuvent être une alternative appropriée aux techniques classiques (ROMPE et al. 2002).

Une détection des coliformes par des méthodes moléculaires est également efficace, étant donné que ces procédés permettent pour la détection rapide et très précise sans la nécessité d'une étape de culture.

2-3-1- Le dénombrement de la flore mésophile totale aérobie (FMAT) :

Elle est dénombrée sur une gélose de dénombrement PCA (Plate Count Agar). 0,1ml de la dilution est étalé sur la surface de la boîte de Pétri. Ensuite, de la gélose fondue est coulée et homogénéisée avec l'inoculum. Une deuxième couche de gélose est coulée pour éviter les contaminations et la diffusion des colonies. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

2-3-2-Le dénombrement des coliformes totaux :

Les coliformes sont dénombrés sur la gélose au désoxycholate-lactose en double couche. 1ml de la suspension préparée est déposé dans une boîte de Pétri stérile, on ajoute 13 ml de gélose fondue et ramenée à 47°C. L'ensemble est bien homogénéisé par un mouvement de rotation de la boîte de Pétri puis solidifié à la température ambiante. La deuxième couche est ensuite coulée. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 heures.

Les colonies caractéristiques des coliformes rouge foncé, d'un diamètre supérieur à 0,5 mm sont dénombrées.

2-3-3-Le dénombrement des coliformes fécaux :

Les coliformes fécaux sont dénombrés de la même manière que les coralliformes totaux mais les boîtes ensemencées sont portées à 44°C pendant 24 heures.

2-3-4-Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* :

Le dénombrement de *S. aureus* est effectué sur le milieu de Chapman. Un volume de 0,1 ml de la dilution est étalé sur la surface de la gélose solide. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Les colonies typiques, c'est à dire, jaunes et luxuriantes élaborant leur propre pigment sont dénombrées après une coloration de Gram et un test à la catalase. L'identification du *S. aureus* est ensuite effectuée par la recherche de la coagulase et la Dnase (Désoxyribonuléase).

-La mise en évidence de la coagulase :

Cinq colonies sont repiquées sur des tubes de bouillon cœur-cervelle. Après incubation à 37°C pendant 18 heures, 0,5 ml de culture sont ajoutés à 0,5 ml de plasma de lapin. L'ensemble est bien agité, puis incubé à 37°C, Les tubes sont examinés après une heure, 4 heures, puis après 24 heures. La formation d'un caillot ferme est considérée comme une réaction positive.

- La recherche de la Dnase (Désoxyribonuléase) :

Une colonie suspecte est ensemencée en strie horizontale sur une gélose à ADN et incubée à 37°C pendant T8-24 heures.

La révélation se fait par une solution d'HCl N/5. Un résultat positif se traduit par la présence d'un halo clair autour de la strie synonyme de la digestion de l'ADN par la Dnase.

2-3-5 -La recherche des salmonelles :

La détection de Salmonelle dans les aliments comporte différentes étapes :

2-3-5-1- Pré-enrichissement :

La prise d'essai de produit (25g ou ml) est placée dans 125 ml d'eau peptonée tamponnée, puis incubée à 37°C pendant 4 heures.

2-3-5-2- Enrichissement :

A partir du milieu de pré-enrichissement, 1 ml est porté dans un tube de bouillon sélénitecystine qui est un milieu sélectif et d'enrichissement des Salmonelles et des Shigelles.

L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 heures.

2-3-5-3- Isolement :

Les isollements sont effectués sur la gélose SS (Salmonella-Shigella) à partir du milieu d'enrichissement. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Les colonies suspectes sont repiquées sur le milieu Mueller-Hinton Agar et incubées à 37°C pendant 24 heures.

2-3-5-4- Identification biochimique :

Les colonies de Salmonelle sont identifiées selon les caractères biochimiques classiques en utilisant une galerie biochimique pour les entérobactéries composée des milieux suivant :

- Kligler
- Citrate de Simmons
- Milieu à la phénylalanine (APP)
- Mannitol - Mobilité
- Urée-indole
- Clark et Lübs.

Ou bien on utilise le système d'identification automatique API.

2-3-5-5- Identification antigénique :

La confirmation par sérotypage est réalisée en utilisant un anti-sérum polyvalent somatique, des anti-sérums somatiques de groupe et des anti-sérums flagellaires.

2-3-6-Le dénombrement du *Pseudomonas aeruginosa* :

Il s'effectue sur une gélose au cétrimide. 1ml de la dilution du produit à analyser est étalé sur le milieu gélosé. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 heures. Les colonies sont identifiées grâce à une coloration de Gram, un test à l'oxydase et la production de pigments (Pyocyanine et pyoverdine).

2-3-7-Le dénombrement des anaérobies sulfuto-réducteurs (A.S.R) :

Ce dénombrement est effectué sur le milieu S.P.S (sulfadiazine polymyxine sulfite). 1 ml de la dilution du produit à analyser est inoculé dans un tube contenant le milieu S.P.S en surfusion. Pour que l'incorporation de l'inoculum dans le milieu gélosé soit correcte, une homogénéisation du mélange est nécessaire. Les tubes ensemencés sont rapidement mis dans

un bac contenant de l'eau froide. Une fois la gélose est prise en masse, les tubes sont incubés dans une jarre anaérobie à 46°C pendant 24 heures. Les colonies noires d'un diamètre d'environ 1 à 2,5 mm sont dénombrées.

2-3-8-Le dénombrement des levures et des moisissures :

Les levures et les moisissures sont dénombrées sur le milieu Sabouraud additionné du chloramphénicol. 0,1 ml de la dilution de l'échantillon à analyser est étalé sur le milieu gélosé. L'incubation est effectuée à 30°C pendant 24 à 48 heures pour les levures et jusqu'à 5 jours pour les moisissures. Les colonies suspectes sont observées à l'état frais puis dénombrées.

Chapitre III. Résultats des analyses des miels :

Pour toute analyse d'authenticité d'un miel, il y a plusieurs paramètres standards à vérifier. Le tableau suivant dresse les valeurs de ces caractéristiques appliquées à nos miels.

I-Résultats des analyses physico-chimiques des normes (nos miels):

Tableau N° 16. Les résultats des analyses physicochimiques (d'authenticité) de nos miels.

Paramètre :	Résultats d'analyses :	Normes requises :
Teneur en eau	20,60%	< à 21%
Degré de Brix	78,50%	> à 65%
pH	5,6	<6,10
Conductivité électrique	0,62 mS/cm	< à 0,8 meq/Kg
Densité	1,45	1,39 à 1,52
Acidité	31 meq/Kg	< à 50 meq/Kg
Cendres	0,43%	< à 0,8%
Sucres réducteurs avant inversion	Sr=78.5%	Supérieur à 65% .
Sucres réducteurs après inversion	St=85,05%	Supérieur à 65% .
Saccharose	4,75%	Max de 10% .
La couleur	0,72	

II-Interprétation de ces analyses :

Les résultats des analyses physico-chimiques qui sont résumés dans le Tableau 16, montrent que la teneur en eau de miel est de 20,6%, alors que la valeur de la matière sèche est de 80% et un indice de réfraction de 1,389. Cette teneur en eau se situe dans l'intervalle préconisé par le « *Codex Alimentarius* » qui ne dépasse pas 21% pour les miels en général. La

teneur en eau d'un miel est une donnée importante, car elle conditionne d'une part la qualité du produit. D'autre part sa durée de vie pendant l'entreposage en dépend (TERRAB et al.2003). Le miel qui contient une teneur élevée en eau fermente facilement.

1-Le degré de Brix :

Le degré de Brix de notre miel est de 78,5%, valeur qui est supérieure à 65%, norme recommandé par le (*Codex Alimentarius*. 2001). Selon la norme proposée par Bogdanov (BOGDANOV et al.2001), les miels qui présentent un degré de Brix supérieur à 60% ont pour origine le nectar.

2-Le pH :

La valeur moyenne du pH de nos échantillons de miel est de 5,6. D'après Donnadiou (1984), le miel est acide si son pH est en moyenne entre 3.5 et 6. Le pH d'un miel est en relation avec la quantité d'acide ionisable qu'il renferme (ions H⁺), ainsi que sa composition minérale. GONNET (1986) affirme qu'un pH faible de l'ordre de 3.5 pour un miel, prédétermine un produit «fragile» pour la conservation avec lequel il faut prendre beaucoup de précautions, par contre un miel à pH 5 ou 5.5 se conservera mieux et plus longtemps.

3-La conductibilité électrique :

La conductibilité électrique de notre miel est de 0,62 ms/cm. Cette dernière dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel. Plus ces derniers sont élevés et plus la conductivité correspondante est élevée. Il existe une relation linéaire entre ces grandeurs mesurées (PIAZZA et al.1991). TALPAY (1985) rapporte que la conductivité électrique est plus facilement mesurable. Elle est utilisée principalement pour la caractérisation de certains miels monofloraux. D'après BOGDANOV (1999), le miel de nectar, les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et que le miel de miellat et le miel de châtaignier, supérieure à 0,8 mS/cm. La conductibilité de notre miel est inférieure à 0,8 mS/cm. Dans ce contexte GONNET (1986), rapport que la conductibilité électrique d'un miel apporte une indication précieuse dans la définition d'une appellation. Les miels issus de nectar et ceux issus de miellats ont une valeur de 1 à 1,5 mS/cm, par contre les valeurs médianes correspondent souvent à des mélanges naturels des deux origines. Notre miel est dans l'intervalle de 0,1 à 0,5 mS/cm).

4-La densité :

La valeur de la densité obtenue de notre miel est de 1,45 et correspond à un taux d'humidité de 16,9%. Selon LOUVEAU (1985), les variations de la densité des miels proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau et moins il est dense. Aussi peut-on dire que l'échantillon analysé a un taux de densité conforme aux normes fixées par l'association française de normalisation (1,39 à 1,52).

5-L'acidité :

L'acidité du miel est de 31 meq/kg. Selon les normes internationales de *Codex alimentarius* (2001), l'acidité libre d'un miel ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents d'acide par 1000 g. Notre miel est conforme aux normes préconisées. Gonnet (1982), affirme que tous les miels sont acides. Ils contiennent des acides organiques libres ou combinés sous forme de lactones. Les miels ont des valeurs d'acidité variables d'une région à une autre et d'une saison à une autre. Des valeurs descendent jusqu'à 3,7 meq / kg), notamment celles de certains miels de l'Amérique Latine (ANACLETO et al. 2009, LATIMER et HORWITZ. 2005 in AMADA et al. 2014). D'après AMADA et al, la valeur maximale jamais obtenue est celle qu'ils ont citée eux même et qui est de (130-160 meq / kg). Ce fait peut être lié au moment de la récolte, à savoir la maturité du miel, et / ou des facteurs climatiques, qui favoriseraient des réactions microbiologiques chimique, enzymatique, capables de libérer des composés plus ou moins acides dans le miel (AMADA et al.2014).

6-Les cendres :

La teneur en cendres de 0,43% est conforme aux normes fixées par le «*Codex Alimentarius*» qui est égale ou inférieure à 0,8%. La teneur en cendres est considérée comme un critère de la qualité qui indique l'origine botanique du miel (fleur, miellat ou mélange des deux) (WHITE et al.1978). Selon *Codex Alimentarius* les miels qui ont une teneur en cendre inférieure à 0,6% sont des miels de nectar et qui ont une valeur inférieure à 1% sont des miels de miellat.

7-La teneur en sucre :

La teneur en sucres réducteurs de miel est de Sr=78.5%. Ce résultat concorde avec ceux établis par GONNET (1979), qui précise que la teneur des miels varie de 57,90 à 86,70 % pour les sucres réducteurs « Glucose + fructose ». Notre résultat est aussi conforme aux normes du «*Codex Alimentarius*» qui est supérieur à 65%. La teneur de miel en saccharose est

de 4,75% qui correspond aux normes établies par BOCQUET (1997) qui fixe une limite maximale de 10 % de saccharose et conforme à la norme de «*Codex Alimentarius*» qui est au maximum de 10%.

8-La couleur :

Le miel présente une absorbance de 0,72. LOUVEAU (1968), indique que la couleur du miel est liée à la teneur en matière minérale et en protéines. Ainsi les miels foncés sont plus riches en éléments minéraux, cendres, protéines et en colloïdes. Ces miels bruns sont les plus recherchés par les connaisseurs en la matière

Donc l'ensemble des caractéristiques des miels analysés se sont avérés normales et conformes celles di codex alimentarius.

III-Les résultats d'analyses des ETM dans le lot 1 de miels :

Les ETM sont issus de beaucoup d'activités humaines essentiellement l'industrie et des transports et polluent l'air, l'eau et le sol. Si les ruches se situent à proximité d'une zone polluée, le miel risque de contenir leur traces, notamment du plomb et du cadmium, parce que déposés sur les fleurs et nectar. A l'heure actuelle, aucune LMR n'a encore été fixée pour les métaux lourds dans un miel en Europe.En effet le CODEX STAN 12-1981 dit : Le miel doit être exempt de métaux lourds à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine.

Les analyses de nos miels ont révélés des contaminations qui sont rapportées dans les deux tableaux 17 et 18 suivants :

Tableau N° 17. Résultats des analyses ETM à l'ICP des échantillons lot 1 de miels (mg/kg)).

Métaux/ Echantillons	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
1	0.0658	0.11	3.72	2.25	4.88	0.32	1.18	6.06
2	0.0521	0.06	0.13	0.81	4.78	0.49	0.40	6.69
3	0.0609	0.12	0.20	2.34	6.32	0.93	0.51	13.00
4	0.053	0.09	1.74	0.64	5.02	0.16	0.50	2.71
5	0.021	0.09	3.88	0.82	3.55	0.39	0.62	0.26
6	0.0326	0.12	0.16	1.70	5.18	0.60	0.31	9.25
7	0.044	0.08	2.57	0.57	3.52	0.38	0.43	4.22
8	0.0525	0.10	4.63	0.70	5.05	0.41	0.50	7.42
9	0.0569	0.11	5.46	0.92	3.67	0.70	0.59	8.71
10	0.0419	0.10	5.92	0.84	1.65	0.62	0.39	9.92
Moyenne	0.048	0.098	2.841	1.159	4.362	0.498	0.543	6.824

Tableau N° 18. Concentrations moyennes en fer (Fe), zinc (Zn), cuivre (Cu), plomb (Pb), mercure(Hg) et cadmium (Cd) déterminées dans les échantillons de miel du lot 2.

Métal	Nombre de recherche	Échantillons positifs (%)	Taux moyens (mg/kg)
Fe	20	20	40,0-45,0
Zn	20	20	6,0-10,2
Cu	20	20	1,60-2,35
Pb	20	20	52,00-73,00
Cd	20	3	1-5
Hg	20	0	-

1-Interprétations et recommandations :

Or nos deux lots de miels sont affectés par la souillure des ETM avec un taux de concentrations du Cr et As aussi dangereux que la présence du Pb par rapport aux effets à faibles concentrations de ces deux substances. Le lot 2 est trop chargé en Pb.

LEQUET.L (2010) a rapporté des valeurs Pb retrouvées dans le miel qui sont faibles et comprises entre 0,001 et 1,4 mg/kg. Celles du Cd varient entre 0,001 et 0,113 mg/kg alors que le seuil de tolérance pour le cadmium est fixé à 50µg/kg. Quant au mercure le seuil de détection est établi à 0.0005 mg/kg.

Les résultats d'analyses obtenus (Tableaux 17 et 18) montrent que les métaux recherchés, tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le fer (Fe) le cadmium (Cd), le Plomb (Pb) ou encore le mercure (Hg) sont présent dans la matrice miel. Les différentes concentrations en métaux, sont respectivement de 40,0-45,0 mg/kg-1 pour le Fe, 6,0-10.2 mg/kg-1 pour Zn, 1,60-2,35 mg/kg-1 pour le Cu, et 1-5 mg/kg-1 Cadmium et que les concentrations en Pb étaient de très loin supérieures aux concentrations de différent métaux.

Les valeurs du Zn et du Fe sont les plus importantes de toutes et on respectivement des moyennes de 6.824 et 4.362 mg/Kg. Tandis que celles du plomb retrouvées dans le lot 2 sont comprises entre 52,00-73,00 mg/kg-1 et sont très largement supérieures à la moyenne du lot 1. Ces concentration de Zn, Fe et Pb tant traduisent bien l'usage très courant de ces métaux et que l'on constate sur le terrain par des ferailles des unités de traitement de métaux en plus de manipulations multiple et variées au sein de ce pôle industriel en particulier la présence d'une ferraille limitrophe de la zone de notre étude qui en est pour quelque chose. En effet ces métaux sont considérés comme marqueurs d'activités anthropiques (industries, transports, ...), sont présents dans tous les compartiments environnementaux. A ce titre, l'abeille y est fortement exposée lors de son activité de butinage. Ces métaux se trouvant dans l'air, le sol, la végétation ou l'eau. Si le miel est réputé pour ses vertus, notamment liées à sa composition (sucres, enzymes, vitamines, hormones, métaux), il y a là un exemple de sa contenance en de nombreux polluants environnementaux (ETM, pesticides, antibiotiques,...).

Alors que nous nous attendions plutôt à une prédominance de Fe comme nous avons l'habitude de le voir, notamment dans les eaux usées de Berrechide. En effet dans ces eaux usées et les organes de plantes qui en sont irriguées, le Fer atteint des valeurs remarquables (1.89 mg/Kg) parmi les 10 éléments traces analysés à tel point que l'on peut douter de leur compatibilité avec les cultures. Alors que le Zn, ici prédominant, ne dépasse guère selon des sources, la valeur de 1.9 mg/Kg (VANHANEN et al. 2011). Il en est de même pour des études en Anatolie (Turquie) où la valeur de Fer est de 6.6 mg/Kg et celle du Zn est de 2.7 mg/Kg (YILMAZ et YAVUZ. 1999). Ces valeurs de Zn et le Fe bien qu'elles soient élevés ne sont pas aussi inquiétantes que celles du Cr d'un point de vue effets sur la santé. Il est le plus important élément trace dans le corps humain, après le fer. L'élément Zn^{2+} est présent dans la catalyse acide, des enzymes telles que l'anhydrase carbonique (COX, 2004). C'est aussi un oligoélément essentiel et indispensable pour la santé de l'être humain et pour l'ensemble des organismes vivants mais dans des concentrations très faibles (AL RASHDI et al. 2015). Sa déficience dans le corps humain est reconnue être à l'origine d'un dommage causé aux

cellules et d'une baisse de vision (CHANG et al. 2007, OTEIZA et MCKENZIE. 2005, POHL et al. 2001).

D'autres séquences comme : Zn > Cd > Cu > Ni > Pb > Cr, ont été rapporté dans des recherches antérieurs avec le Zn est toujours en tête. Ceci est dû au large éventail de son usage (traitements de surfaces, revêtement des métaux contre la corrosion, constructions de bâtiments et leur durabilité, les alliages, les équipements automobiles, appareils électroménagers, installations, outils, jouets, dans les produits pharmaceutiques, les équipements médicaux et les produits cosmétiques,...). Des concentrations similaires aux nôtres en Zn ont été trouvées dans des miels de production indo (NANDA. 2003) et argentins (PELLERANO et al. 2012), alors qu'une analyse des miels en Italie montre des valeurs plus basses que notre cas en Zn et en Fe (PISANI et al. 2008). En fait de nombreux facteurs comme la température, la dureté de l'eau, le pH et la teneur en carbone organique dissous, agissent sur la biodisponibilité du Zinc dans l'eau (Mendil.2015). La fraction des métaux lourds qui ont le potentiel d'être libéré dans l'étape d'hydrolyse des ordures, correspondant à la plus haute mobilité noté pour Zn dans la décharge (LEE et al. 2006), ce qui est vraisemblablement le cas dans notre étude, car il la décharge de Berrechide qui n'est pas loin de la zone et qui peut drainer les métaux par temps pluvieux. L'apport des engrais et la nourriture pour animaux qui peuvent avoir une contribution dans ces valeurs élevées en Zn dans nos échantillons, étant donné la vocation typiquement agricole de la région de la Chaouia et la manipulation des engrais au sein du quartier industriel.

Le chrome quant à lui, est connu comme toxique à des valeurs relativement basses. Il est largement utilisé de nos jours dans les dérivés industriels dont également les engrais. Sa forme chromate est très soluble est très toxique (MENDIL. 2015). Sa présence de plus en plus détectée dans les écosystèmes et surtout dans les eaux est un phénomène anormal à effets graves sur tous les organismes via la chaîne alimentaire.

Les concentrations AS, Pb et Cd, qui sont des éléments très dangereux non biodégradable et à rémanence élevée (GARCIA-SEVILLANO. 2014), ont heureusement les valeurs les plus basses dans nos analyses. A titre d'exemple cette association de métaux est présente dans la cigarette dans l'ordre de concentrations décroissantes : cadmium, plomb, arsenic (PIADE. 2015).

Le cadmium est un composé inorganique polluant qui est écotoxique. Il est d'une grande mobilité et de ce fait peut affecter la biocénose et toute la chaîne alimentaire (Zia-ur-

Rehman. et al. 2015). Il est un élément cancérigène certain (ANDUJAR et al. 2010). Des études ont montré son action antagoniste au Zinc et un effet toxique vis-à-vis de la prostate (ANDREUCCI. 2015). Dans la nature le Cd montre une très faible concentration, le plus souvent avec le Zinc (ANDREUCCI. 2015), bien que dans certains sols il existe naturellement en concentration assez élevées. Les principales sources sont les émissions volcaniques, l'activité anthropique par les eaux usées de l'industrie, les produits chimiques de l'agriculture (SEELIGER et KNAK.1982), BAUGARTEN et NIENCHESKI. (1998), GHADA et al. (2013)), l'exploitation minière, l'incinération des déchets, les minerais de sulfure, le raffinage de métaux (Nordber. 2015), la un sous-produit de l'industrie métallurgique du zinc. Il passe uniformément dans les tissus des légumes contaminés combustion de certains produits et surtout sous forme de Cd (II). Le Cd est véhiculé par les abeilles, ainsi que d'autres contaminants potentiellement dangereux à partir du nectar. Les concentrations en Cd détectées ici sont bien inférieures à d'autres valeurs de recherches sur des miels, d'écosystèmes naturels, dans des zones arides qui varient de 0,14 à 074 mg/Kg (HABIB et al. 2014).

Quelles que soient les concentrations, la majorité des études fait le lien entre, d'une part, le degré d'anthropisation et les sources potentielles d'émission de plomb (zones industrialisées ou proximité avec des axes routiers), Les concentrations les plus élevées en plomb, om2nt par ailleurs été mesurées pour la plupart lors d'études antérieures à la fin des années 90, c'est-à dire avant les principales interdictions d'utilisation du plomb dans différents pays. Les études récentes pour lesquelles les concentrations mesurées restent élevées correspondent à des études menées sur des échantillons de miel prélevés dans des zones très industrialisées ou peuplées, ou des pays d'industrialisation ancienne (LEBLEBICI et AKSOY. 2008, TUDOREANU et al. 2008, ROMAN et al. 2011).

Ainsi, au plomb d'origine naturelle, s'est ajouté le plomb rejeté dans l'environnement par les activités humaines : peintures, tuyauteries, munitions, batteries automobiles (près de 70 % des utilisations du plomb actuellement), carburants automobiles, alliages, protection contre les rayonnements, masses de lestage, ... (INERIS. 2003, AMIARD. 2011).

Les effets toxiques du plomb sur tous les êtres vivants végétaux (freine la croissance des plantes et réduit la productivité (DURGESH et al. 2016)) hématotoxicité et sa neurotoxicité. Le saturnisme, maladie correspondant à une intoxication aiguë ou chronique par le plomb, touche aussi bien les mammifères, dont l'Homme, que les oiseaux. Les voies respiratoires (poussières atmosphériques et poussières domestiques) et digestives (alimentation, chez les

oiseaux aquatiques) sont les principales voies d'exposition au plomb. De très nombreux travaux à travers le monde ont étudié l'exposition au plomb et ses effets toxiques sur les faunes terrestre et aquatique (BARAK et MASON. 1990, OVERMANN et KRAJICEK. 1995, DIETZ et al. 1996, FISCHER et al. 2006), chez les organismes vertébrés et invertébrés (BAGLEY et LOCKE. 1967 ; Williamson et EVANS. 1972, NEHRING. 1976, LEWIS et al. 2001 ; BLUS et al. 1987) mais aussi chez l'Homme (GROSS et al. 1975, FLEGAL et SMITH. 1995, NRIAGU et al. 1996).

Compte tenu des effets toxiques du plomb et donc des enjeux de santé publique, la surveillance de la qualité des aliments et de l'environnement est nécessaire. Pour répondre à cette problématique, de nombreuses études ont mis en évidence la fonction de biomarqueurs réalisée par certaines espèces animales et végétales. En revanche, les teneurs en plomb dans les aliments et les matériels domestiques faisant l'objet d'une attention toute particulière, la contamination des matrices apicoles consommables (miel, propolis, pollen) ou utilisables par l'Homme (cires) a été plus largement étudiée dès le début des années 80 (PETELINSEK. 1977, KERKVLIT. 1983, JONES. 1987, ROWARTH. 1990) et l'est encore aujourd'hui (CODREANU et al. 2009b, BILANDZIC et al. 2011, COZMUTA et al. 2012). Quelques travaux actuels étudient ce rôle d'indicateur joué par l'abeille et les matrices apicoles associées pour discuter des « patterns » de contamination par le plomb en fonction de l'origine paysagère des échantillons et de la période d'échantillonnage (MORGANO et al. 2010, PERUGINI et al. 2011).

Enfin l'absence de mercure, élément extrêmement dangereux, est un événement heureux pour les consommateurs de ces miels. D'autres recherches (GOLNAR. 2016, tableau ci-dessous) ont abouti à des résultats semblables avec la présence d'une gamme de métaux et l'absence du mercure. Une très longue liste de contaminants ETM (Surtout As, Cd et Pb) dans la matrice miel a été dressée par l'auteur incluant diverses localités en Turquie, en milieux ruraux, urbains et de zones industrielles en milieux urbains, dont on note l'absence de mercure comme dans notre cas. « La raison pour laquelle le mercure n'a pas été détecté, dit-il, peut être le résultat de l'absence de sources de pollution par le mercure atmosphérique dans la région, donc, les abeilles ne sont pas exposées au mercure pendant la période de surveillance ». En fait nous pensons que le cas du Hg est particulier vu sa caractéristique d'évaporation dès qu'il se trouve en milieu aérien ce qui le rendrait difficile à capter à partir de l'air.

2- Comparaison avec d'autres résultats :

Il est utile d'avoir une idée de comparaison des valeurs trouvées avec ce qui a été rapporté dans d'autres cas similaires.

2-1-Pour les valeurs du Pb :

Les résultats trouvés ailleurs sont rassemblés dans le tableau 19 pour le Pb et le tableau 20 pour d'autres métaux :

Tableau N° 19. Comparaison des concentrations en plomb avec celles trouvées dans 11 pays.

Auteurs (année)	Pays d'étude	Concentrations en plomb dans les miels ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		
		Minimum	maximum	moyenne
Otto et Jekat (1977)	Allemagne	24,0	1667,0	149,0
Kerkvliet (1983)	Pays Bas	140,0	1200,0	-
Rowarth (1990)	Nouvelle Zélande	-	1131,0	133,0
Przybyłowski et Wilczyńska (2001)	Pologne	25,0	70,0	48,0
Fredes et Montenegro (2006)	Chili	10,0	110,0	-
Tuzen <i>et al.</i> (2007)	Turquie	8,4	105,8	-
Leblebici et Aksoy (2008)	Anatolie Centrale	200,0	1506,2	-
Pisani <i>et al.</i> (2008)	Italie	28,2	304,0	76,4
Tudoreanu <i>et al.</i> (2008)	Roumanie	-	-	842,0
Codreanu <i>et al.</i> (2009a)	Roumanie	210,0	890,0	-
Achudume et Nwafor (2010)	Nigeria	40,0	230,0	-
Bilandžić <i>et al.</i> (2011)	Croatie	10,0	841,0	65,2

Compte tenu que nous n'avons qu'un nombre réduit d'échantillons et que le tableau ci-dessus affiche des minimas et maximas dans 11 pays, sans doute suite à un grand nombre d'analyses, nous nous contenteront de comparer nos valeurs avec les minimas :

La moyenne de l'élément Pb de nos échantillons du lot1 est $540 \mu\text{g/kg}$ est assez élevée que toutes les concentrations trouvées dans 11 pays (tableau N°19 et tableau N°20). Celle du lot 2, est de $62,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ est inférieure aux résultats trouvés dans le premier cas (Tableau N°19), par contre elle est proche de celles trouvées en Turquie (Tableau 20).

2-2-Exemple de concentrations d'analyses en Turquie :

Ci-dessous les résultats, similaires aux notres, révélés par des analyses de miels d'ailleurs :

Tableau N° 20. Valeurs de certains métaux lourds dans 5 échantillons de miel de Turquie, d'après Golnar. (2016).

	Pb ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	As ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Echantillon 1	43.88	NT	1636.00	NT
Echantillon 2	51.14	4.56	1229.00	NT
Echantillon 3	36.35	1.51	801.52	NT
Echantillon 4	30.36	4.46	637.75	NT
Echantillon 5	52.06	2.84	844.93	NT

NT= Non trouvé.

Pour le cas du Cd les résultats rencontrés en Turquie sont assez élevées par rapport aux nôtres (jusqu'à 8x nos valeurs). Il en est de même pour As. L'absence d'Hg est identique pour l'ensemble de ces analyses.

2-3- Normes et recommandations :

Selon la littérature (Programme de biosurveillance. (2017) et BRGM. (2013)), Il n'existe pas de valeurs réglementaires pour les teneurs en éléments métalliques dans le miel.

Le CODEX STAN 12-1981 Page 1 de 10 Normes adoptées en 1981. Il y a eu révisions en 1987 et 2001 dit :

-Pour les métaux lourds : Il n'existe pas de valeurs réglementaires pour les teneurs en éléments métalliques dans le miel. Il doit être exempt de métaux lourds à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine.

-Pour les résidus de pesticides et de médicament vétérinaires : Le miel et dérivées doivent être conformes aux limites maximales de résidus fixées pour ce produit par la Commission du Codex Alimentarius.

IV-Résultats et interprétations des analyses multi-résidus des pesticides et des antibiotiques dans les échantillons de miels :

1-Les pesticides et d'antibiotiques dans les miels :

Des produits nouveaux dans la matrice miel sont de plus en plus détectés. Par exemple dans 76 miels écologiques dits « bio » et d'autres non bio d'origines diverses ont été analysés et portent les traces de 56 pesticides et 35 antibiotiques.

Tableau N° 21. Les valeurs d'analyses en pesticides et antibiotiques dans les miels du lot 2.

Concentration : Echantillon :	Concentrations en antibiotiques (mg.Kg1)	Concentration en pesticides (mg.Kg-1)
1	0,313	0,271
2	0,350	0,216
3	0,392	0,196
4	0,234	0,236
5	0,221	0,212
6	0,232	0,226
7	0,197	0,248
8	0,358	0,171
9	0,231	0,302
10	0,810	0,190
11	0,167	0,182
12	0,231	0,295
13	0,260	0,219
14	0,323	0,268
15	0,230	0,245
16	0,311	0,240
17	0,335	0,265
18	0,295	0,234
19	0,305	0,215
20	0,285	0,227
Moyenne	0,315	0,232

2-Interprétation de ces valeurs :

L'analyse des pesticides, par méthode multi-résidus, dans 20 échantillons de miel a révélé la présence de ces molécules (Tableau 22 ci-dessous). La majorité des échantillons de miel, contiennent des pesticides (17%) bien qu'à un taux très faible alors que l'analyse des valeurs réelles, méthode plus sensible, montre une généralisation de la contamination (Tableau 21). En matière d'apiculture cette valeur est peu significative quant aux concentrations effectives ayant circulé dans les ruches. En effet le miel, éventuellement contaminé, entre

régulièrement dans la ruche tant qu'il y a des ressources en nectar mais son stockage massif n'a lieu qu'à l'approche de la saison de pénurie, de froid ou de manque de floraison et parallèlement avec l'arrêt du couvain en vue d'optimiser les réserves. En outre, chaque région a ses particularités climatiques, agricoles et apicoles dont notamment l'ultime période de ramassage de miel avant l'arrêt de stockage. Cette période peut coïncider avec la présence de cultures plus ou moins étendues et donc des traitements aux pesticides à la portée des essaims. Comme elle peut avoir lieu à des moments où il n'y a aucun traitement faute de cultures. La dose de pesticides entrée est donc fonction de la disponibilité de nectar contaminé.

Dans la région de Settat et Berrechide, traditionnellement, la cueillette de miel n'a lieu qu'en début d'automne. A cette période et durant l'été, juste avant la cueillette, il n'y a que très peu de cultures de subsistances tard dans la saison. Ceci explique le faible taux des pesticides qui, à notre avis, ne représente qu'un reliquat chimique de concentrations plus importantes qui ont transité par la ruche durant le printemps. Au niveau santé ce taux de pesticide, bien que faible, constitue un apport conséquent au niveau de l'organisme à ajouter à d'autres apports qui vont s'accumuler dans les tissus de l'organisme. Ceci est d'autant plus significatif si la consommation de miel est fréquente chez un consommateur, amenant à un cumul.

Au Maroc les données des analyses des pesticides dans les denrées alimentaires en général et dans le miel en particulier se font rares et ce probablement à cause de la complexité des procédures d'analyses et de leurs couts. En France, sur 80 molécules analysées, le nombre de résidus trouvés a été plus important dans les échantillons de miel (n=28), comparativement aux échantillons de pollen (n=23) et d'abeilles (n=20) mais les concentrations les plus élevées ont été déterminées dans le pollen (LOMBERT. 2012). Le miel reste donc la plus exposée des matrices apicole à une contamination aux pesticides, peut être grâce à son aspect liquide qui est prédisposé à dissoudre bon nombre de molécules, contrairement aux autres composantes apicoles de nature solide.

‘Tableau N° 22. Pourcentage et taux moyen des éléments polluants dans les miels lot 2.

Paramètre : Résidu :	Nombres de recherches	Echantillon positif (%)	Taux moyen (mg/Kg)
Pesticide	20	17,2	0,2
Antibiotique	20	13,5	23,5
ETM	20	12	21

3- Interprétation des valeurs antibiotiques :

Le tableau N° 22 ci-dessus donne les résultats en pesticides et antibiotiques de 20 échantillons de miel. Les concentrations globales en antibiotiques de 13 échantillons sur 20 se sont montrées positives à la présence d’antibiotiques avec un taux moyen de 23.5 mg/Kg. Les antibiotiques sont assez présent, de moindre fréquence que les pesticides mais avec des concentrations plus élevées. Cela concorde avec les trouvailles de recherches de par le monde, car les médicaments sont fortement présents dans les eaux, en général et les eaux usées en particulier. Ils le sont encore plus vis à vis des métaux lourds tant en nombre d’échantillons contaminés qu’en concentrations requises.

Cette interprétation aurait plus de valeur si l’on avait mesuré les vraies concentrations des trois produits et leurs proportions relatives dans les eaux usées elles-mêmes car seule une partie arrive au miel.

En conclusion et selon PASSERAT et al. (2010) :

- Les effluents hospitaliers sont des sources de contamination en antibiotiques et en bactéries fécales antibiorésistantes dans les cours d’eau récepteurs.
- Le traitement dans les stations d’épuration classiques par boues activées n’est pas suffisant pour éliminer ces deux contaminants.
- Les concentrations d’antibiotiques mesurées dans les effluents et dans les rivières sont compatibles avec des effets écotoxiques tels que mis en évidence dans des études in vitro.

V-La microbiologie des échantillons de miels :

Buts des analyses :

Les objectifs de cette étude sont de suivre l'évolution bactérienne (*coliformes totaux*, *Escherichia coli*, *entérocoques*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.* et *Staphylococcus aureus*) dans les échantillons de miels et leur impact sur les eaux environnantes, et sur la santé de la population limitrophe. Peu d'études rapportent la présence de bactéries pathogènes dans la matrice apicole. Notre étude apporte de nouvelles données sur les effectifs bactériens et leur capacité de développement et de survie dans des milieux spécifiques : la matrice apicole. De plus, le suivi de ces bactéries fécales permettra d'utiliser cet outil comme traceur naturel d'une contamination récente.

1- Résultats des analyses bactériologiques des miels :

La détermination de la charge microbienne a été effectuée sur 12 échantillons. Les résultats obtenus sont représentés dans les Tableaux 23 et 24 ci-dessous.

Tableau N° 23. Fréquence de la flore bactériologique identifiée dans 20 miels :

Germes/g	Flore mésophile	Levures osmophiles	Entérocoques	Coliforms	Escherichia coli	Anaérobies	Salmonelle
Absence	1	5	8	9	10	13	20
< à 5	3	1	2	1	5	4	0
5 à 20	4	3	2	4	3	2	0
$0.2.10^2$ à 1.10^2	8	4	2	2	1	1	0
$1.1.10^2$ à 5.10^2	2	2	3	3	1	0	0
5.110^2 à 10.10^2	1	2	2	1	0	0	0
$>10.10^2$	1	3	1	0	0	0	0
Total recherches	20	20	20	20	20	20	20

Tableau N° 24. Résultat d'analyse microbiologique des miels du lot 1 (en ufc/g) :

(FMAT = Flore mésophile aérobie totale ; Colif = Coliformes totaux ; Clostr = Clostridiiums ; Entero = Enterocoques.)

Germes Echantillons	FMAT. ufc/g	Colif. ufc/g	Staphy. ufc/g	Strep F ufc/g	Clost. ufc/g
1	$1,5.10^8$	$3,0.10^3$	$5,0.10^2$	110	6,7
2	2.10^7	$3,1.10^3$	$3,2.10^2$	110	6,80
3	$1,2.10^7$	$1,1.10^3$	$7,0.10^2$	110	3,70
4	3.10^8	$3,0.10^2$	$3,0.10^2$	140	5,20
5	9.10^7	$4,7.10^3$	$2,1.10^2$	145	6,70
6	2.10^7	$3,0.10^3$	$8,3.10^2$	140	2,07
7	$3,5.10^7$	$2,7.10^2$	$1,7.10^2$	145	2,11
8	$1,2.10^7$	$1,1.10^3$	3.210^2	110	7,50
9	$9,2.10^7$	$7,0.10^2$	$4,0.10^2$	140	5,47
10	11.10^8	$4,1.10^3$	$1,7.10^2$	110	3,20
11	$2,5.10^7$	$2,2.10^3$	$2,4.10^2$	145	4,32
12	$3,2.10^7$	$4,2.10^3$	$2,1.10^2$	110	3,22
Moyenne	$1,6.10^8$	$2.6.10^3$	$3,7.10^2$	118	4,75

1-1-Interprétation des résultats :

1-1-1-Bactéries Mésophiles Aérobies totales (FMAT) :

Les 12 échantillons de miels analysés montrent un taux élevé de la flore mésophile aérobie totale. Ce taux en FMAT reste supérieur à ceux d'autres recherches. Il est un indice d'une contamination très forte des différents échantillons analysés, laquelle contamination est rare dans les écosystèmes sains, dépourvus de zones de charge microbiologique dont essentiellement des eaux usées.

1-1-1-1-Enterobacteriaceae :

Les enterobacteriaceae sont réputées parmi le plus pathogène et sont plus souvent rencontrés dans la microbiologie clinique. Ces souches à large Gram- négatif sont associées habituellement à des infections intestinales, mais peuvent être trouvés dans presque tous

habitats naturels. Ils sont les agents derrière les maladies comme la méningite, dysenterie bacillaire et l'intoxication alimentaire.

1-1-1-2-Coliformes totaux :

Coliformes sont fortement représentés dans les différents échantillons analysés.

Les résultats de dénombrement de cette flore (tableaux 23 et 24) montrent, que plus de 75% des échantillons présentent une charge en Coliforme supérieure à 10^5 ufc/g alors qu'environ 17 % avaient une charge supérieure à 10^4 ufc / g. avec une moyenne globale de $3.5.10^5$ ufc/g. En termes de pourcentage (tableau 24), 20 % des coliformes identifiés étaient des Escherichia coli, suivis respectivement par Enterobacter et de Klebsilla pneumonia avec 13.33% et Citrobacter freundii avec 8.33%. Les autres entérobactériacae lactose négatif Proteus merabilis avec 11.66 Schigella dysenteria 10%. Cependant aucune souche de salmonella ni vibron cholérique n'a été isolée. Les coliformes totaux influencent considérablement la santé des animaux : Leurs intestins peuvent jouer un rôle positif et favorisent l'augmentation des coliformes ou au contraire ils peuvent limiter leur développement ce qui bénéficie à plusieurs bactéries toxiques qui peuvent constituer un vrai danger de la santé chez les animaux (DUCLUSEAU. 1994).

1-1-1-3-Streptocoques :

Les **Enterococcus** qui sont responsable d'intoxication alimentaire varient de 110 à 145 ufc/g, avec une charge moyenne 126.25 germes par gramme. La plupart des Streptocoques sont identifiées comme Streptocoque de groupe D, avec une charge moyenne 120 germes par gramme.

1-1-1-4-Staphylocoques :

Le nombre de Staphylocoque montre une petite variation entre $1.7 \cdot 10^4$ et $8.3 \cdot 10^4$ ufc/g, avec une moyenne de $3.6.10^4$ ufc/g. Les souches soupçonnées ont été identifiées. Les résultats ont montré que la plupart des souches sont catalase +, coagulase +, ADNase et phosphatase+. Elles sont identifiées comme *Staphylocoque aureus*.

1-1-1-5-Salmonella :

Nos échantillons ont montré l'absence totale de Salmonelle.

1-1-1-6-Clostridiums :

Les *Clostridiums* constituent un problème d'intoxication alimentaire surtout en bas âge. Leur présence dans le Tableau 23, montre une charge importante qui varie entre 207 et 750 ufc/g avec une moyenne de 475 ufc/g. La charge microbienne dépasse de loin les normes requises.

La présence coliforme peut indiquer la présence de coliformes fécaux, indicateurs classiques de pollution fécale (WHO.1997). Seuls les coliformes non fécaux sont capables de se multiplier dans les conditions environnementales (WHO, 2004). *Escherichia coli*, commensal du tube digestif de nombreux animaux, n'est pas saprophyte en milieu tempéré. C'est la bactérie coliforme la mieux appropriée pour indiquer une pollution fécale d'animaux à sang chaud (Ashbolt et al. (200) ; APHA. (1998)), il est la plus commune (Jamieson et al. (2002)) et la plus résistantes aux conditions environnementales extrêmes (Edberg et al. (2000)). *Escherichia coli* est un pathogène opportuniste capable de provoquer aussi bien des intoxications (souche entéro-hémorragique) et diarrhées (Tarr et al. (998) ; Bouchaud. (2002)), que des infections (Hagberg et al. (1981) ; Haun. (1992)). Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer, le sol et sur les végétaux. Elles ont une durée de vie plus longue que les coliformes (McFeters et al. (1974) ; Clausen et al. (1977) ; Edberg et al. (1997) ; WHO. (2004)) et même équivalente à celle des virus (Bitton et al. (1983) mais ne sont pas capables de se multiplier dans l'environnement (Bitton. (2005)). Tout cela en fait de très bons indicateurs de contamination fécale et également de la présence de virus. Chez l'homme, les entérocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes responsables de nombreuses infections. Les trois espèces bactériennes que sont *Pseudomonas aeruginosa*, les salmonelles et *Staphylococcus aureus* sont peu impliquées dans des problèmes de santé publique liés à l'eau de consommation mais plutôt indicatrices d'eau sale. *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce bactérienne dont l'habitat est le plus vaste. Elle vit à l'état saprophyte dans l'eau et les sols humides. Sa présence est constante et abondante dans les eaux usées (Leclerc et al. (2003)). *Pseudomonas aeruginosa* peut se multiplier dans l'environnement et n'a donc aucune valeur indicatrice d'une contamination fécale récente. D'autre part, aucune étude épidémiologique n'a montré l'existence d'une association entre la présence de cette bactérie dans les eaux d'alimentation et l'apparition de cas de maladies. Sa présence ne pose donc pas un problème de santé publique d'actualité (Hunter. (2002) ; Fricker. (2002) ; Allen et al. (2002)). *Salmonella* spp. Sont très répandues dans l'environnement et peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Les salmonelles non typhoïdes sont abondantes mais causent

rarement des intoxications (gastro-entérites) par consommation d'eau potable. Enfin, *Staphylococcus aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans les eaux usées. Son caractère ubiquitaire et sa résistance croissante aux antibiotiques sont à l'origine d'infections fréquentes et graves (suppurations, septicémies, toxi-infections et chocs toxiques). Sa présence effective dans l'eau potable n'a jamais été à l'origine d'infections (Le Chevallier & Seidler (1980) ; Antai. (1987)).

1-1-2-Sulfito-réducteurs :

Groupe important de bactéries Gram positives, anaérobies, qui forment des spores.

Leur habitat naturel est le sol ou le gros intestin de l'homme ou des animaux. La plupart des espèces sont des organismes saprophytes dans le sol. Leurs spores peuvent survivre de longues périodes dans les fèces, le sol, la poussière et l'eau. En terme de conclusion les échantillons de miel montrent une importante charge microbienne, en effet cette étude révèle que les échantillons de miel abritent plusieurs espèces bactériennes pathogènes, notamment les *Enterobacteriaceae* réputées parmi les germes les plus pathogène et épidémique, les bactéries toxigènes notamment les staphylocoques, les streptocoques et surtout les *clostridium*s constituent un danger d'intoxication alimentaire. Ce qui constitue un sérieux problème environnemental et sanitaire.

1-2-Normes d'hygiène :

-En matière d'hygiène et vu les différentes directives tant du Codex alimentarius FAO/OMS ainsi que les Normes Européennes relatent dans des textes trop longs pour être cité entièrement ici, les conditions de manipulation délicate et les soins d'hygiènes propres et sévères à ce type de produit. Nous en retenons :

Selon le CODEX NORME pour le miel (*CODEX STAN 12-1981 et CAC/CL 21-1997*).

L'Annexe à la présente norme est destinée à être appliquée à titre facultatif par les partenaires commerciaux et ne s'adresse pas aux gouvernements.

CHAMP D'APPLICATION :

La première partie de la présente norme s'applique à tous les miels produits par les abeilles *Apis mellifera* et vise tous les modes de présentation des miels qui sont transformés et dont la destination finale est la consommation directe. La deuxième partie vise le miel destiné à des usages industriels ou utilisé comme ingrédient dans d'autres aliments.

-Il est recommandé que les produits visés par les dispositions de la présente norme soient préparés et manipulés conformément aux sections appropriées du Code d'usages international recommandé

Les produits doivent satisfaire à l'un quelconque des critères microbiologiques établis conformément aux principes régissant l'établissement et l'application de critères microbiologiques pour les denrées alimentaires (CAC/CL 21-1997). Celle-ci stipule :

En cas de non-conformité par rapport à un critère microbiologique applicable à un agent pathogène d'origine alimentaire, les mesures peuvent aussi comprendre le tri, une transformation ultérieure, le détournement de l'aliment vers une autre utilisation, le retrait et/ou le rappel du produit, la retransformations, le rejet ou la destruction du produit, et/ou la conduite d'une enquête plus poussée afin de déterminer les mesures à prendre. Les mesures additionnelles peuvent comprendre un échantillonnage plus fréquent, une inspection et des vérifications, l'imposition d'amendes et la suspension officielle des activités.

Conclusion :

Le produit miel doit être exempt de contamination microbienne et pour cela il devrait être extrait, manipulé et confectionné avec une extrême prudence. Des dispositions concernant les conditions et les locaux de manipulation sont recommandées par des littératures de façon à avoir un produit final consommable.

Prenant en compte ces recommandations et vu la charge en différents germes des miels que nous avons analysé, ces aliments sont dangereux pour la santé humaine et non conformes aux normes d'hygiène en vigueur. Ces miels ne devraient, en aucun cas, faire l'objet de consommation, ni de commercialisation ni de transformation.

Conclusion générale :

Nous sommes satisfaits que cette étude se soit très intéressante et cela pour tous les volets abordés :

Elle l'est particulièrement quand elle révèle que les échantillons du miel analysés, abritent plusieurs espèces bactériennes pathogènes, coliforme et entérobactéries, qui peuvent provoquer de sérieux problèmes d'ordre environnemental et de santé publique. La présence bactérienne de ce genre, celle d'antibiotiques et de pesticides dans un produit naturel insoupçonné d'insalubrité est un phénomène anormal. En effet ces composés ne se rencontrent pas facilement dans les composantes écosystémiques et ne peuvent faire partie de la chaîne physiologique amenant à l'élaboration du nectar.

La principale cause de cette infection serait le fait que les abeilles utilisent les eaux usées car la zone étudiée étant aride où l'eau propre fait défaut pendant une longue et chaude période de l'année, durant laquelle la demande de ces insectes en eau peut s'avérer très élevée. Nous avons pris le soin de s'assurer que ces insectes s'abreuvent bien des eaux insalubres et les avons observés sur le terrain par temps chaud.

Quant à l'irrigation du maïs par les eaux usées brutes les résultats sont à la fois intéressants et concluants. Ils confirment de nombreuses autres études antérieures Tandis que le rapport des éléments minéraux au processus d'absorption et d'adsorption est fortement compliqué et a fait l'objet de multitudes littératures de par le monde. Il en est de même des méthodes d'infiltration de ces minéraux au travers les profils de chaque type de sol. On comprend alors le degré de difficulté à interpréter ces volets ensemble et en même temps.

Pour le volet des métaux, le présent travail a mis en évidence un comportement différentiel des éléments minéraux vis-à-vis de leur rétention verticale dans les sols. Certains éléments sont fortement concentrés en surface et faiblement représentés en profondeur ou inversement. Il en est de même des concentrations au niveau des organes d'une même plante, ici le maïs, dont la nature et la physiologie exigent normalement, sur un sol sain et de l'eau propre, une certaine équitabilité ionique entre les différents organes, ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Des disparités de concentrations ioniques sont notées selon la nature de l'organe de la plante mais qui confirment parfaitement la littérature.

Dans tous les cas, l'ensemble des résultats concorde en grande partie avec des résultats publiés par d'autres auteurs à savoir (1) la surface d'un sol, quel que soit sa nature et ses propriétés, retient des concentrations en ions nettement élevée par rapport aux niveaux sous-jacents. La matière organique logiquement fortement présente à la surface en est le principal facteur d'abord par adsorption. (2) Dans toutes les références parcourues, les racines sont particulièrement concentrés en éléments minéraux indépendamment de la nature et la charge ionique de l'eau d'irrigation, du type de sol, de l'espèce de la plante et de son âge. En effet la chevelure racinaire, chez les plantes herbacées, se trouve généralement à la surface du sol, ce qui complique alors les mécanismes en additionnant l'adsorption des deux matrices en contact, sol et racines, à ceux d'absorption racinaires, eux même compliqués, sélectif et différentiels pour les mouvements transmembranaires. Les pompes de transfert de part et d'autres des compartiments cellulaires ont une capacité limitée à effectuer ce travail par rapport à « l'embouteillage ionique ». De même que les besoins physiologiques de la plante ne vont pas au-delà du nécessaire. Les racines seraient alors en surcharge ionique à la fois par adsorption et par attente à l'absorption. (3) La nature argileuse des sols étudiés ici suppose un gonflement, comme il est le cas chez les sols de cette nature, ce qui provoque une rétention accrue d'une eau de surface, fortement chargée en ions, et qui favorise ainsi une évapotranspiration importante au dépend d'une concentration ionique à la surface du sol et des racines.

-Alors que les pesticides sont des produits dangereux, répandus dans les écosystèmes, connus par une mobilité importante dans toutes les matrices et vu leur bioaccumulation spécifique dans certains organes ou tissus, devraient prendre une part importante de nos analyses. Malheureusement la détermination de la concentration de chaque type de molécule est une technique très difficile, prend beaucoup de temps et elle est coûteuse. De ce côté nous sommes restés sur notre faim. Néanmoins des chercheurs ont mis au point certaines techniques permettant de quantifier l'ensemble ou la majorité des molécules pesticides dans un soluté. Alors nous nous sommes contentés de ce résultat.

Concernant l'analyse des miels, les Micro-organismes et les pesticides ont plusieurs voies de pénétration dans la ruche et donc de se trouver dans leurs produits. Ainsi la détection de ces composantes était éminente. En effet les pesticides, antibiotiques et métaux lourds sont présents dans la majorité des miels. Le taux d'antibiotiques est assez important tant en quantité qu'en fréquence des tests positifs, tandis que celui relatif aux métaux lourds est dangereusement élevé, tant en dosage qu'en qualité du métal. En effet le plomb est présent

dans la moitié des miels à une concentration moyenne de 21 mg/kg, ce qui est une quantité trop élevée.

-Par contre l'analyse physico-chimique des propriétés caractéristiques d'authenticité d'un miel (la teneur en eau, degré de Brix, pH, conductibilité électrique, la densité, l'acidité, les cendres,...) s'est révélée normale.

En fin de compte, vu le milieu dont lequel les abeilles évoluent, vu leurs rapports avec les eaux usées, la cause de la souillure du miel comme celle de la plante maïs, ne peut être que l'usage de ces eaux insalubres surtout quand elles ne sont pas traitées comme il est le cas ici. Le problème est encore plus aggravé dans les climats arides quand la demande en eau est importante, notamment pour la faune sauvage qui est obligée de consommer des eaux hautement concentrées de minéraux et chargées en germes. L'Homme ne fait pas exception, il est tenté par leur réutilisation en agriculture aussi dangereuses soient-elles.

Devant ce résultat, il y a lieu de dégager une conduite à tenir en matière de recherches futures concernant les différents volets élucidés dans ce travail. Il y a là des éventualités d'exploitation tant sur le plan santé publique, environnemental qu'économique.

Le côté santé des populations est le plus préoccupant et nécessite une urgence, compte tenu déjà de ces clichés donnant un point noir de la région entière et de Berrechide en particulier. En effets il n'y a pas que l'usage des eaux à l'air libre, mais aussi celui de la nappe phréatique, et des denrées qui en sont produits, qui dans tous les cas sont sérieusement affectés par les métaux traces. C'est là un danger permanent qui menace des étendues de populations et des générations entières tant que les causes persistent.

Il serait judicieux de voir ce qui se passe réellement sur le secteur en matière de prévalence de maladies, parasitoses et anomalies.

D'un point de vue purement environnemental, même si une STEP est actuellement en marche, cela n'éradique en rien les multitudes infiltrations causées par les insalubrités solides et liquides dans plusieurs coins à la périphérie de la ville. En effet une grosse décharge, pas conformément contrôlée, ni étanche jetterait une quantité de lixiviat très importante vers la nappe. De même que ces bassins de stockage des eaux usées de tout à chacune de ces sociétés, sans dispositif d'étanchéité et qui attend une solution efficace.

Il faudrait envisager des études de recherches de causes à effets et de la dispersion des polluants, sous plusieurs formes, sur la santé de toute la faune locale qui est en relation avec la consommation ou l'usage de l'eau. Certes il n'y a pas que les abeilles qui sont concernées,

mais aussi et certainement beaucoup d'espèces sauvages. Je pense particulièrement à la faune avifaune dont des groupes se sont sédentarisés et constamment inféodés à la décharge ou aux bassins des eaux. Justement par la présence de ces bassins et le fait d'être gavés par une décharge, désormais grande et généreuse, par ses dépôts carnés émanant des abattoirs, boucheries et poissonneries de la ville.

Du côté production agricole, les récoltes qui ont consommées de l'eau impropre, directement ou via la nappe phréatique, devraient faire l'objet de recherches et suivis tout au long de la chaîne alimentaire. Spécialement les légumes, produits laitiers et viandes et qui sont écoulés sur les marchés locaux des environs (Casablanca, Berrechide, Settat et autres). En effet des quantités d'ensilages sont produites pour l'alimentation des bovins de race européenne communs de la Chaouia seraient le départ de contamination des aliments par des résidus chimiques qui portent atteinte à la santé.

Pour conclure, il y a là un volet d'un grand intérêt en matière de recherches environnementales et de santé.

Références

- Achudume.A.C, Nwafor.B.N, 2010. **The ecological assessment of metal in local brands.** *African journal of Agricultural research*, Volume 5(18), pp. 2608 - 2610, September 2010.
- Adam.G. **La biologie de l'abeille.** Ecole d'apiculture Sud-Luxembourg – février 2010
- Académie Nationale de Pharmacie. (2008). **Médicaments et environnement.** Rapport de l'Académie Nationale de Pharmacie Septembre.
- Alonso.C.M.L, I.Sánchez Trujillo, E.Vereda Alonso, A.García de Torres, J.M.Cano Pavón. **Bioavailability of heavy metals in water and sediments from a typical Mediterranean Bay (Málaga Bay, Region of Andalucía, Southern Spain).** *Marine Pollution Bulletin*, Volume 76, Issues 1-2, 15 November 2013, Pages 427-434.
- Ali.M.H.H, K.M. Al-Qahtani. **Assessment of some heavy metals in vegetables, cereals and fruits in Saudi Arabian markets.** *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. Volume 38, Issue 1, 2012, P31-37
- Amada.B.Pucciarelli, M.E.Schapovaloff, S.Kummritz, I.A.Señuk, L.A.Brumovsky, A.M. Dallagno. (2014). **Microbiological and physicochemical analysis of yateí (Tetragonisca angustula) honey for assessing quality standards and commercialization.** *Rev Argent Microbiol*. 2014 ; 46 (4) : 325-332.
- Amiard.J-C. (2011). **Les risques chimiques environnementaux : méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes.** Lavoisier, Editions Tec et Doc, Paris, France, 782p.
- Anacleto.D.A, Souza B de A, Marchini. L.C. **Composition of the honey of samples originated from Jataí bees (Tetragoni angustula Latreille, 1811).** *Food Sci Technol*. 2009; 29:535-54.
- Anastassiades.M, S.J.Lehotay, D.Stajnbaher, F.J.Schenck. **Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce.** *Journal of AOAC international* (2003) 86, 412-431
- Anderson.R.L. **The role of zinc in nitrilotriacetate (NTA)-associated renal tubular cell toxicity.** *Food and Cosmetics Toxicology*. Volume 19, 1981, Pages 639-647, 649-650.

- Andujar.P, L. Bensefa-Colas, A. Descatha. **Intoxication aiguë et chronique au cadmium.** *La Revue de Médecine Interne. Volume 31, Issue 2, February 2010, 107-115.*
- Atobatele.O.E et Olutona.G.O. (2015). **Distribution of three non-essential trace metals (Cadmium, Mercury and Lead) in the organs of fish from Aiba Reservoir, Iwo, Nigeria.** *Toxicology Reports. Volume 2, 2015, Pages 896-903.*
- Avci.H et T.Deveci. (2013). **Assessment of trace element concentrations in soil and plants from cropland irrigated with wastewater.** *Ecotoxicology and Environmental Safety. Volume 98, 1 December 2013, Pages 283-291.*
- Bagley.G.E, Locke.L.N. (1967). **The occurrence of lead in tissues of wild birds.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 2, 297-305.*
- Barak.N.A-E, Mason.C.F. (1990). **Mercury, cadmium and lead concentrations in five species of freshwater fish from eastern England.** *Science of the Total Environment 92, 257-263.*
- Battesti.M-J, C.Goeury. **Efficacité de l'analyse mélitopalynologique quantitative pour la certification des origines géographique et botanique des miels : le modèle des miels corses.** *Review of Palaeobotany and Palynology, Volume 75, (1992). Issues 1-2, Pages 77-102.*
- Bou Saab.H, Nassif.N, El Samrani.A.G, Daoud.D, Medawar.S, Ouaini.N. **Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban).** *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science. Volume 20, numéro 4, 2007, p. 341-352.*
- Burton.J.A, Gunnison.D et Lanza.C.R. (1987). **Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments.** *Appl. Environ. Microbiol. 53 : 633-638.*
- Baugarten.M.G.Z, Niencheski.L.F. (1998). **Avaliacao da qualidade hidroquímica da área portuária da cidade de rio grande RS.** Documentos Técnicos 09. Rio Grande, editora da FURG, pp. 5-66.
- Beeby.A, L.Richmond. **The shell as a site of lead deposition In Helix aspersa.** *Arch. Environ. Contam.Toxicol. 18 (1989) 623-628.*

- Ben Achiba.W, N.Gabteni, A.Lakhdar, G.Du Laing, M.Verloo, N.Jedidi, T.Gallali. (2009). **Effects of 5-years application of municipal solid waste compost on the distribution and mobility of heavy metals in a Tunisian calcareous soil.** *Agriculture Ecosystems and Environment*.Volume130.pp 156-163.
- Bensefa-Colas.L, P.Andujar, A.Descatha. **Intoxication par le mercure.** *La Revue de Médecine Interne*. Volume 32, Issue 7, July 2011, Pages 416-424.
- Béraud. E, S Cotellet, P Leroy, JF Féraud. (2007). **Genotoxic effects and induction of phytochelatins in the presence of cadmium in Vicia faba roots.** *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*.Volume 633, Issue 2, 4 October 2007, 112-116.
- Beyersmann.D. (2002).**Effects of carcinogenic metals on gene expression.** *Toxicology Letters*. Volume 127, Issues 1-3, 28 February 2002, Pages 63-68.
- Bhatnagar.A, AshwaniKumar Minocha, Hyung-Keun Chung, Seong-Heon Kim, Hyoung-Soo Kim, Giehyeon Lee, Booki Min, Byong-Hun Jeon. (2008). **Vanadium removal from water by waste metal sludge and cement immobilization.** *Chemical Engineering Journal*. Volume 144, Issue 2, 15 October 2008, Pages 197-204.
- Bilandžić.N, M.Đokić, M.Sedak, B.S.Kolanović, I.Varenina, A.Končurat, N.Rudan (2011). **Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions.** *Food Chemistry* 128, 1160-1164.
- Blus.L.J, Henny.C.J, Mulhern.B.M. (1987). **Concentrations of metals in mink and other mammals from Washington and Idaho.** *Environmental Pollution* 44, 307-318.
- Bogdanov.S. (1999). **Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel.** Centre suisse de recherche apicoles. Liebefeld, CH-3003. Berne
- Borchert.A. (1966). **Die Krankheiten und Schädlinge der Honigbiene.** *Hirzel Verlag, Leipzig*, 486 pp.
- Bou Saab.H, Nassif.N, El Samrani.A.G, Daoud.D, Medawar.S, Ouāini.N. **Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban).** *Revue*

des sciences de l'eau / Journal of Water Science. Volume 20, numéro 4, 2007, p. 341-352

Bourgoin.B.P. (1990). **Mytilus edulis shell as a bioindicator of lead pollution: considerations on bioavailability and variability.** *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 61 (1990), pp. 253-262

Bourioug.M, F.Gimbert, L.Alaoui-Sehmer, M.Benbrahim, L.Aleya, B.Alaoui-Sossé. (2015). **Sewage sludge application in a plantation: Effects on trace metal transfer in soil–plant–snail continuum.** *Science of the Total Environment. Volume 502, Pages 309-314.*

BRGM. (2013). **Diagnostic environnemental Interprétation de l'Etat des Milieux (IEM). Rapport phases 2 et 3 - Mai 2013.** Anciens sites miniers sur les communes de SAINT FELIX DE PALLIERES ET THOIRAS.

Braziewicz.J, I.Fijał, T.Czyżewski, M.Jaskóła, A.Korman, D.Banaś, A.Kubala-Kukuś, U. Majewska, L. Zemło. (2002). **PIXE and XRF analysis of honey samples.** *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms. Volume 187, Issue 2, Pages 231-237*

Brischoux.S, A.Desmoulière, Y.Faucher, G.Pautard, A. Sparsal. **Le miel : qualité, produits et utilisation.** *Actualités pharmaceutiques. N° 531. décembre 2013. 26*

Brisou.J. (1968). **La pollution microbienne, virale et parasitaire des eaux littorales et ses conséquences pour la sante publique.** *Bull. Org. mond. Sante 1968, 38, 79-118*

Burton.J.A. Gunnison D. et Lanza C.R. (1987). **Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments.** *Appl. Environ. Microbiol. 53: 633-638.*

Baritaud.S, A.Desmoulière, S.Durand-Fontanier, C.Martin, F.Pesteil, A.Sparsa. **Les principales plaies susceptibles d'être traitées par le miel.** *Actualités Pharmaceutiques. Volume 52, Issue 531, December 2013, Pages 32–35.*

Camuzard J-P. (2000). IV. **Fonctionnement du système sol.** Engref Paris.

Carbonell.G, R.M. de Imperial, M.Torrijos, M.Delgado, J.A.Rodriguez. (2011). **Effects of municipal solid waste compost and mineral fertilizer amendments on soil**

- properties and heavy metals distribution in maize plants (*Zea mays* L).** *Chemosphere. Volume 85, Issue 10, November 2011, Pages 1614–1623*
- Castro-González.M.I., M.Méndez-Armenta. (2008). **Heavy metals: Implications associated to fish consumption.** *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26 (3) (2008), pp. 263-271.
- Cataldo.D.A, R.E.Wildung, T.R.Garland. **Speciation of trace inorganic contaminants in plants and bioavailability to animals: an overview.** *J. Environ.Qual.* 16 (1987), pp. 289-295.
- Chang Zhang, Zhi-gang Yu, Guang-ming Zeng, Min Jiang, Zhong-zhu Yang, Fang Cui, Meng-ying Zhu, Liu-qing Shen, Liang Hu. (2014). **Effects of sediment geochemical properties on heavy metal bioavailability.** *Environment International.* Volume 73, December 2014, Pages 270-281.
- Celli.G, Maccagnani.B. **Honey bees as bioindicators of environmental pollution.** In: Proceedings of the eighth International Symposium of the ICP-BR BeeProtection Group. Hazards of pesticides to bees. Bologna, Italy, 4-6 Septembre 2002. *Bulletin of Insectology*, 2003, 56(1), 137-139).
- Cherbuliez.T. Domerego. R. **L’apithérapie, Médecine des abeilles.** Bruxelles : Ed. Amyris SPRL, 2003, 230p.
- Chong.E.W, T.Y.Wong, A.J.Kreis, J.A.Simpson, R.H.Guymer. **Dietary antioxidants and primary prevention of age-related molecular degradation: Systematic review and meta-analysis.** *BMJ*, 335 (2007), pp. 755-759.
- Chatterjee.S.K, I.Bhattacharjee, G.Chandra. (2010). **Biosorption of heavy metals from industrial wastewater by *Geobacillus thermodenitrificans*.** *Journal of Hazardous Materials.* Volume 175, Issues 1-3, 15 March 2010, Pages 117-125.
- Chon. A H.T et al. **Seasonal variations and chemical forms of heavy metals in soils and dusts from the satellite cities of Seoul, Korea.** *Environ. Geochem. Health* .20, 77–86. *Applied Geochem*, 1991.

- Couillard.D, M.Chartier. **Removal of metals from aerobic sludges by biological solubilization in batch reactors.** *Journal of Biotechnology.* Volume 20, Issue 2, September 1991, Pages 163-180
- Chauzat.M.P, J.P.Faucon, A.C.Martel, J.Lachaize, N.Cougoule, M.Aubert. **A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honeybees in France.** *J. Econ Entomol*, 99 (2006), pp. 253-262
- Chauzat.M.P, J.P.Faucon. **Pesticide residues in beeswax samples collected from honeybee colonies (*Apis mellifera* L) in France.** *Pest Manag Sci*, 63 (2007), pp. 1100-110.
- Cheggour.M. (1999). **Evaluation de la contamination métallique sur la côte marocaine et son environnement paralique entre Larache et Safi- Etude de mollusques bivalves et leur biotope sédimentaire.** Thèse d'Etat, Uni.Cadi Ayyad. Marrakech, 335p.
- Chengkai Qu, X.Xing, S.Albanese, A.Doherty, H.Huang, A.Lima, S.Qi, B.De Vivo. **Spatial and seasonal variations of atmospheric organochlorine pesticides along the plain-mountain transect in central China: Regional source vs. long-range transport and air soil exchange.** *Atmospheric Environment.* 122. (2015) 31-40.
- Chukwujindu M.A. Iwegbue, Grace E. Obi-Iyeke, Godswill O. Tesi, Grace Obi, Francisca I. Bassey. **Concentrations of selected metals in honey consumed in Nigeria.** *International Journal of Environmental Studies.* 2015. Volume 72. Issue: 4. 713-722.
- Chunling.L, Chuanping Liu, Yan Wang, Xiang Liu, Fangbai Li, Gan Zhang, Xiangdong Li. (2011). **Heavy metal contamination in soils and vegetables near an e-waste processing site, south China.** *Journal of Hazardous Materials.* Volume 186.pp.481-490.
- Cindrić.A-M, C.Garnier, B.Oursel, I.Pižeta, D.Omanović. **Evidencing the natural and anthropogenic processes controlling trace metals dynamic in a highly stratified estuary: The Krka River estuary (Adriatic, Croatia).** *Marine Pollution Bulletin.* Volume 94, Issues 1-2, 15 May 2015, Pages 199-216.

- Clausen.L, Fabricius.I, Madsen.L. **Adsorption of Pesticides onto Quartz, Calcite, Kaolinite, and α -Alumina.** *J. Environ. Qual.* (2001), 30, 846-857. *Codex Alimentarius.* (2001).
- Conseil National de la Recherche Scientifique (Liban). (2004). **Les maladies liées à l'eau.** Sagascience. septembre 2005.
- Conti.M.E. et G.Cecchetti, (2003). **A biomonitoring study: Trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas.** *Environ. Res.*, 93 (2003), pp. 99-112.
- Costa.L.G. et M.Aschner. **Toxicology of Pesticides.** *Reference Module in Biomedical Sciences.* 2014.
- Couquet.Y, A.Desmoulière, M-L. Rigal. **Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.** *Actualités pharmaceutiques n° 531.* Décembre 2013. Pages 22–25
- Couillard.D, M.Chartier. **Removal of metals from aerobic sludges by biological solubilization in batch reactors.** *Journal of Biotechnology.* Volume 20, Issue 2, September 1991, Pages 163-180
- Creusot.N. **Contribution de l'AP analysis à l'identification de perturbateurs endocriniens dans les milieux quatiques.** (2011). Thèse de Doctorat, Université Bordeaux I.
- Culetu.A, I.Ion, J.Costa, C.Luca, A.C.Ion. (2010). **Polyvinyl chloride-based membranes of 3,7,11-tris (2-pyridylmethyl)-3,7,11,17-tetraazabicyclo [11.3.1] heptadeca-1(17),13,15-triene as a Pb(II)-selective sensor.** *Desalination.* Volume 259, Issues 1-3, 15 September 2010, Pages 38-43.
- Deforce.K. **Pollen analysis of 15th century cesspits from the palace of the dukes of Burgundy in Bruges (Belgium): evidence for the use of honey from the western Mediterranean.** *Journal of Archaeological Science.* Volume 37, Issue 2, February 2010, Pages 337-342.
- Dabrowski. J-M, J. M. Shadung, V. Wepener. **Agricultural pesticides used in South Africa based on their environmental mobility and potential human health effects.** *Environment International Prioritizing* 62 (2014) 31-40.

- Dahmani-Muller.H, F.van Oorta, B.Gélie, M.Balan. (2000). **Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter.** *Environmental Pollution. Volume 109, Issue 2, August 2000*, Pages 231-238.
- Degbey.C, M.Makoutode, V.Agueh, M.Dramaix. **Facteurs associés à la qualité de l'eau de puits et prévalence des maladies hydriques dans la commune d'Abomey-Calavi (Bénin).** *Cahiers d'études et de Recherches Francophones/Santé.* Volume 21, numéro 1, Janvier/Mars 2011.
- Dejoux.C. (1990). **Ecotoxicological consequences of the antivectorial battle in tropical countries: The situation in African lotic ecosystems.** *Science of The Total Environment. Volumes 97-98, November 1990*, Pages 799-813.
- Delgado.Z. L. F, C.Albasi. **Médicaments dans l'eau : présence, risques et potentialités de traitement.** *Techniques de l'ingénieur, RE 141.* France, juillet 2009.
- Dhahir.S.A, A.H.Hemed. **Determination of Heavy Metals and Trace Element Levels in Honey Samples From Different Regions of Iraq and Compared with Other Kind.** *American Journal of Applied Chemistry.* 2015 ; 3(3): 83-92.
- Djebali.W, W.Chaibi, M.H.Ghorbel. **Croissance, activité peroxydasique et modification ultrastructurales induites par le cadmium dans la racine de tomate.** *Can. J. Bot.,* 80 (2002), pp. 942-953.
- D.E.A.L (Direction de l'Environnement et de L'aménagement Littoral). **Etude de la qualité du milieu marin littoral en Martinique (Baie de Fort de France).** Rapport d'étude.Mars 1994
- Donnadieu.Y. (1984). **Pollen : thérapeutique naturelles.** 5ème Ed Maloine S.A. Paris.3-1p.
- European Commission (E.C), (1997). **Proceedings of the European Workshop on the Impact of Endocrine Disrupters on Human Health and Wildlife [archive].** Weybridge, UK. 58 pp.

- El Ouali.L.A, Merzoki.M, EL Hillali.O, Maniar.S, Ibnsouda Korachi.S. **Pollution des eaux de surface de la ville de Fès au Maroc : Typologie, origine et Conséquences.** *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 09, Décembre 2011, pp. 55-72
- El Achheb.A. (1993). **Etude hydrogéologique et hydrochimique de la plaine de Doukkala.** Thèse de 3^{me} cycle, Fac. Sc. Semlalia. Marrakech, 132 p.
- Empain.A. **Estimation de la pollution par métaux lourds dans la Somme par l'analyse des bryophytes aquatiques.** *Bull. Fr. Piscic.* (1976) 260 : 138-142
- Enjuanes.C, I.J.T.Klip, J.Bruguera, M.Cladellas, Piotr Ponikowski, Waldemar Banasiak, Dirk J. van Veldhuisen, Peter van der Meer, Ewa A. Jankowska, Josep Comín-Colet. **Iron deficiency and health-related quality of life in chronic heart failure: Results from a multicenter European study.** *International Journal of Cardiology.* Volume 174, Issue 2, 15 June 2014, Pages 268-275.
- El Haite.H. (1991). **Eléments de réponse pour une meilleure maîtrise des pollutions et gestion des eaux usées à Fès.** Thèse de Doctorat es sciences. Université Moulay Ismaïl, Meknès, Maroc.
- El Kettani.S, E.-M.Azzouzi, A.Maata. **Prévalence de Giardia intestinalis chez une population rurale utilisant les eaux usées à des fins agricoles à Settât, Maroc.** *Médecine et Maladies Infectieuses.* Volume 36, Issue 6, 2006, Pages 322-328
- El Ouali.L.A, Merzoki.M, EL Hillali.O, Maniar.S, Ibnsouda Koraichi.S. **Pollution des eaux de surface de la ville de Fès au Maroc : Typologie, origine et conséquences.** *Larhyss Journal*, ISSN 1112-3680, n° 09, Décembre 2011, pp. 55-72.
- El-Aidy.W.K, A.A.Ebeid, Abd El-Raouf.M.S, I.E.Muhammad, A.T.Abbas, M.A.Kamal, S.S.Sohrab. **Evaluation of propolis, honey, and royal jelly in amelioration of peripheral blood leukocytes and lung inflammation in mouse conalbumin-induced asthma model.** *Saudi Journal of Biological Sciences.* Volume 22, Issue 6, November 2015, Pages 780-788.
- El-Sorogy.A, M.youssef. (2015). **Assessment of heavy metal contamination in intertidal gastropod and bivalve shells from central Arabian Gulf coastline, Saudi Arabia.** *Journal of African Earth Sciences.* Volume 111, November 2015, Pages 41-53.

- Elzen.P.J, J.R.Baxter, M.Spivak, W.T.Wilson. (2000). **Control of Varroa jacobsoni resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos.** *Apidologie*, 31 (2000), pp. 437-441.
- Emília Silva, Michiel.A.D, M-J.Cerejeira. (2015). **Aquatic risk assessment of priority and other river basin specific pesticides in surface waters of Mediterranean rivers basins.** *Chemosphere. Volume 135.* September 2015, Pages 394-402.
- Erbilir.F, E.Özlem. **Determination of Heavy Metals in Honey in Kahramanmaraş City, Turkey.** *Environmental Monitoring and Assessment.* 2005 Volume: 109 Issue: 1 p: 181-187.
- European Commission Council Regulation (1990). (E.E.C). No. 2377/90 of 26 June 1990. **Laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits for veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin.** *Official Journal L 224, 18/08/1990 p. 1-8.*
- Fakir.Y, A.Zerouali, M.Aboufirassi, M.Bouabdelli. **Exploitation et salinité des aquifères de la Chaouia côtière, littoral atlantique, Maroc.** *Journal of African Earth Sciences.* Volume 32, Issue4, 2001, Pages 791-801.
- Falandysz.J, J.Caboń.Ołów w. **Lead in food products prepared from game animals.** *Med. Weter., 46 (11) (1990),* pp. 427-429.
- Farag.M.M, Haggag.N.M, Loutfy.MN, M.A.M.Osman, M.Tawfic.Ahmed. (2015). **Residues organochlorine and synthetic pyrethroid pesticides in honey, an indicator of ambient environment, a pilot study.** *Chemosphere. Volume 120, February 2015,* Pages 457-461.
- Faure.M. **Purification de l'air ambiant par l'action bactéricide de la photolyse.** Thèse de Doctorat. Université de Nancy. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Fenicia.L, Ferrini A.M., Aureli P, Pocecco.M. (1993). **A case of infant botulism associated with honey feeding in Italy.** *Eur. J. Epidemiol*, 9 (6), 671-673.
- Fisher.I.J, D.J.Pain, V.G.Thomas. (2006). **A review of lead poisoning from ammunition sources in terrestrial birds.** *Biological Conservation 131,* 421-432.

- Flegal.A.R, Smith.D.R. (1995). **Measurements of environmental lead contamination and human exposure.** *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 143, 1-45.
- Flogeac.K. **Etude de la capacité de rétention de produits phytosanitaires par deux solides models des sols. Influence de la capacité des cations métalliques.** Doctorat en Sciences. Université de Reims Champagne-Ardenne. octobre 2004.
- Frère.A. **Les croisements et l'apiculture de demain.** Paris : SNA, 1985, 127p.
- Fourche.R. **Contribution à l'histoire de la protection phytosanitaire dans l'agriculture française, 1880-1970,** *Ruralia*, 15|2004, le 30 septembre 2005, consulté le 15 février 2016. URL: <http://ruralia.revues.org/1049>.
- Fredes.C, Montenegro.G. (2006). **Heavy metals and other trace elements contents in Chilean honey.** *Cienca e Investigación Agraria* 33, 50-58.
- Fergusson.J.P, Baxter.G.A, Mac Evoy J.D.G, Stead.S, Rawling.E, Sharman.M. **Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor.** *Analyst*, 2002,127, 951-956
- Freiberg.L, T.Kiellstrom, G.Nordberg, M.Piscaior. (1979). **Handbook on the Toxicology of Metals, 21 Cadmium.**
- Fuge.R, F.M.Pearce, W.T.Perkins. (1993). **Geochemistry of cadmium in the secondary environment near abandoned metaliferous mines, wales.** *Applied Geochemistry, Supplement*, 2 (1993), pp. 29-35.
- Gauthier.M.J, P.M.Munro, G.N.Flatau.RLC et V.A. Breittmayer. **Nouvelles perspectives sur l'adaptation des entérobactéries dans le milieu marin.** *Mar. Life* 1993 – Vol. 3 (1-2) : 1-18
- Gabriel.D.S, L.Dodds, T.E.Ar buckle, J.Ashley-Martin, A.S.Ettinger, M.Fisher, S.Taback, M.F.Bouchard, P.Monnier, R.Dallaire, A-S.Morisset, W.Fraser. **Exposure to organophosphorus and organochlorine pesticides, perfluoroalkyl substances, and polychlorinated biphenyls in pregnancy and the association with impaired**

- glucose tolerance and gestational diabetes mellitus: The MIREC Study.** *Environmental Research.* Volume 147, May 2016, Pages 71-81.
- Gar.A.M, A.Tawfik, S.Ookawara. (2015). **Comparison of solar TiO₂ photocatalysis and solar photo-Fenton for treatment of pesticides industry wastewater: Operational conditions, kinetics, and costs.** *Journal of Water Process ineering.* Volume 8, December 2015, Pages 55-63.
- García-Sevillano.M.A, T.García-Barrera, F.Navarro-Roldán, Z.Lobato, J-L.Gómez-Ariza. **A combination of metallomics and metabolomics studies to evaluate the effects of metal interactions in mammals. Application to Mus musculus mice under arsenic/cadmium exposure.** *Journal of Proteomics.* Volume 104, 2 June 2014, Pages 66-79.
- Gavino.S, M.I.Pilo, P.C.Piu, A.Tapparo, R.Seeber. **Determination of heavy metals in honey by anodic stripping voltammetry at microelectrodes.** *Analytica Chimica Acta.* Volume 415, Issues 1-2, 30 June 2000, Pages 165-173.
- Guerzou.M.N et Nadji.N. **Etude comparative entre quelques miels locaux et autres importés.** Université Achour de Djelfa- Algérie. 2002.
- Gerber.R, N.J.Smit, J.H.J.Van Vuren, S.M.M.Nakayama, Yared.B.Yohannes, Y. Ikenaka, M.Ishizuka, V.Wepener. **Bioaccumulation and human health risk assessment of DDT and other organochlorine pesticides in an apex aquatic predator from a premier conservation area.** *Science of the Total Environment* 550 (2016) 522-533.
- Ghada.S, N.Souayed, F.Yaktiti, K.Maaroufi. **Effect of acute cadmium exposure on metal accumulation and oxidative stress biomarkers of Sparus aurata.** *Ecotoxicology and Environmental Safety.* Volume 89, 2013, Pages 1-7.
- Ghezzi.L, G.Monteleone, B.Robinson, F.Secco, M-R.Tiné, M.Venturini. (2008). **Metal extraction in water/micelle systems: Complex formation, stripping and recovery of Cd (II). Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects.** Volume 317, Issues 1-3, 20 March 2008, Pages 717-721.

- Grabensteiner.E, Bakonyi.T, Ritter.W, Pechhacker.H, Nowotny.N. **Development of a multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of three viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.) : Acute bee paralysis virus, Black queen cell virus and Sacbrood virus.** *Journal of Invertebrate Pathology*, 2007, 94 (3), 222-225.
- Gier.S, W.D.Johns. (2000). **Heavy metal-adsorption on micas and clay minerals studied by X-ray photoelectron spectroscopy.** *Applied Clay Science, Volume 16, Issues 5-6*, May 2000, Pages 289-299.
- Gilliam.M. (1979). **Microbiology of pollen and beebread: the genus *Bacillus*.** *Apidologie*, 10 (3), 269-274.
- Gilliam.M. (1979). **Microbiology of pollen and beebread: the yeasts.** *Apidologie*, 10 (1), 43-53.
- Gilliam.M et Prest.D.B. (1987). **Microbiology of feces of the larval honeybee, *Apis mellifera*.** *Invertebr. Pathol*, 49, 70-75.
- Girolami.V, L.Mazzon, A.Squartini, N.Mori, M.Marzaro, A. Di Bernardo, M. Greatti, C. Giorio, A. Tapparo. (2009). **Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees.** *J. Econ Entomol*, 102 (2009), pp. 1808-181.
- Golnar.M, N.Kargar, H.B.Buyukisik. **Bio monitoring of cadmium, lead, arsenic and mercury in industrial districts of Izmir, Turkey by using honeybees, propolis and pine tree leaves.** *Ecological Engineering*.Volume 90, May 2016, Pages 331-335.
- Gomes.S, L.G.Dias, L.Moreira, P.Rodrigues, L.Estevinho. (2010). **Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal.** *Food and Chemical Toxicology* 48. (2010) 544-548.
- Cornuet.J.M et J.Fresnaye. (1989). **Etude biométrique de colonies d'abeilles d'Espagne et du Portugal.** *Apidologie*. (20), 93-101
- Gonnet.M. (1986). **L'analyse des miels. Description de quelques méthodes de contrôle de qualité.** *Bul. Tech. Apic*, 54, 13(1). Pp 17-36.

- Gonnet.M. (1982). **Le miel ; composition, propriétés, conservation**. INRA station expérimentale d'apiculture. Pp : 1-18.
- Gorbe.F,M.Boujelbene, F.Makni-Ayadi, F.Guermazi, F.Croute, J-P.Soleilhavoup, A.El Feki. (2002). **Exploration des effets cytotoxiques du plomb sur la fonction sexuelle endocrine et exocrine chez le rat pubère mâle et femelle. Mise en évidence d'une action apoptotique**. *Comptes Rendus Biologies*. September 2002, Pages 927-940.
- Goullé.J-P, E.Saussereau, C.Lacroix, M.Guerbet. **Métaux**. *Traité de toxicologie Médico-judiciaire*. Chapitre 24. Pages.733-767.
- Granick.J.L. S.Sassa, A.Kappas. (1978). **Some Biochemical and Clinical Aspects of Lead Intoxication**. *Advances in Clinical Chemistry*. Volume 20, 1978, Pages 287-339.
- Greatti.A, A.Sabatini, R.Barbattini, S.Rossi, A.Stravisi. (2003). **Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing.Preliminary results**. *Bull Insectology*, 56 (2003), pp. 69-72.
- Gros.M, Petrović.M, Barceló.D. (2006). **Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters**. *Talanta* 70, 678-690.
- G.T.P.S.C (Groupe de Travail des Professionnels de la Santé. Canada). **Pollution microbiologique de l'eau**. *Santé et Pollution*. Volume 1, Numéro 7 Juin 1996.
- Gunnar.F.G, K.Nogawa, M.Nordberg. **Chapter 32-Cadmium**. *Handbook on the Toxicology of Metals* (Fourth Edition). Volume II: Specific Metals. 2015 , Pages 667-716.
- Galarin.R, G.Saluti, D.Giusepponi, R.Rossi, S.Moretti. **Multiclass determination of 27 antibiotics in honey**. *Food Control*. Volume 48, February 2015, Pages 12–24
- Herradi.N.D. **Agriculture : Dans la Chaouia, rien ne va plus**. *Événement*. Edition N° : 4698 Le 01/02/2016
- Haddaoui.I, O.Mahjoub, B.Mahjoub, A.Boujelben, G.Di Bella. **Occurrence and distribution of PAHs, PCBs, and chlorinated pesticides in Tunisian soil irrigated with treated wastewater**. *Chemosphère* 146 (2016).195-205.

- Hartwig.A et T.Schwerdt. (2002). **Interactions by carcinogenic metal compound with DNA toxicological implications.***Toxicology Letters*. Pages 47-54.
- He.J, J.P.Chen. (2014). **A comprehensive review on biosorption of heavy metals by algal biomass: Materials, performances, chemistry, and modeling simulation tools.** *Bioresource Technology*. Volume 160, May 2014, Pages 67-78.
- Henry.M, M.Fröchen, J.Maillet-Mezeray, E.Breyne, F.Allier, J-F.Odoux, A.Decourtye. **Spatial autocorrelation in honeybee foraging activity reveals optimal focus scale for predicting agro-environmental scheme efficiency.***Ecological Modelling*, Volume 225, 24 January 2012, Pages 103-114
- H.I.W. (Health Indicators warehouse): **Iron deficiency-Pregnant females.** (2012). <http://www.healthindicators.gov>. Accessed April 21, 2014.
- Hfaïedh.N, M.S.Allaoui, F.Croute, J-P.Soleilhavoup, K.Jammoussi, F.M.Ayadi, A.Kammoun, A.El Feki. (2005). **Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère.** *Comptes Rendus Biologies. Biologie et pathologie animale*, Volume 328, Issue 7, Pages 648-660.
- Holger.L, J.Lippmann-Pipke. (2009). **Effect of humic matter on metal adsorption onto clay materials: Testing the linear additive model.** *Journal of Contaminant Hydrology*, Volume 109, Issues 1-4, 2009, Pages 40-48.
- Hongxia Sun, Wenjing Wu, Jixing Guo,Rong Xiao, Fengze Jiang, Lingyan Zheng, Guren Zhang. **Effects of nickel exposure on testicular function, oxidative stress, and male reproductive dysfunction in Spodoptera litura Fabricius.** *Chemosphere*.Volume 148, April 2016, Pages 178-187.
- Huhtanen.C.N, Knox.D. et Shimanuki. H. (1981). **Incidence and origin of Clostridium botulinum spores in honey.** *J. Food Protect.*, 44, 812-814.
- Huai.G , F-Y.Piao X-W.Li, Q-J.Li, L.Xu, K.Yokoyama.(2010). **Maternal and Fetal Exposure to Four Carcinogenic Environmental Metals.** *Biomedical and Environmental Sciences*. Volume 23, Issue 6. Pages 458-465.

- Ineris.N.R, J.B.Ineris, F.Lestremau. (2014). **Evaluation de la méthodologie QuEChERS pour des analyses multirésidus. Thème D : Amélioration des opérations d'analyses physico-chimiques.** Rapport. aquaref.fr
- I.N.R.S. **Les risques biologiques en milieu professionnel.** Brochures INRS, (2008). ED 6034, 1-52. International Rice Research Institute (IRRI).(2013). Available at : <http://www.irri.com> Accessed 21.01.2014.
- I.R.S.N. Fiche radionucléide. **Manganèse 54 et environnement.** Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (2005).
- Iurlina.M.O et R.Fritz. (2005). **Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources.** *International Journal of Food Microbiology*. 105 (2005) 297-304.
- Ivdra.N, S.Herrero-Martín, A.Fischer. (2014).**Validation of user-and environmentally friendly extraction and clean-up methods for compound-specific stable carbon isotope analysis of organochlorine pesticides and their metabolites in soils.** *Journal Of Chromatography A*. 1355 (2014).36-45.
- Jarosz.W.Zanieczyszczenie. **Metalami ciężkimi traw rosnących na obrzeżu dróg.** *Med. Weter.*, 50 (1) (1994), pp. 23-26.
- Jacques.M. **L'entomophagie : une question de culture ?** 2002. *Tropicultura*, 20, (3), 151-155.
- Jeroen.H.J, S.V.Hoek. (2004). **Wastewater use in Pakistan: the case of haroonabad and Faisalabad.** CRDI, Hanbook, 145p.
- Jha.A, A.C.Garade, M.Shirai, C.V.Rode. (2013). **Metal cation-exchanged montmorillonite clay as catalysts for hydroxylation reaction.** *Applied Clay Science*. Volume 74, 2013, Pages141-146.
- Jian.K, Xiaoguang.D, Li.Z, Hongqi.S, Moses O Tadé, and Shaobin.W. **Carbocatalytic activation of persulfate for removal of antibiotics in water solutions.** *Chemical Engineering Journal*. Accépté le December 2015.

J.O.R.F. **Arrêté du 12 novembre 2009 établissant la liste des substances définies à l'article R. 213-48-13 du code de l'environnement relatif à la redevance pour pollutions diffuses.** *Journal Officiel de la République Française*, n°0274 du 26 novembre 2009 page 20318 texte n°7

Jouzel.J-N, G.Prete. (2014). **Devenir victime des pesticides. Le recours au droit et ses effets sur la mobilisation des agriculteurs Phyto-victimes.** *Sociologie du Travail*. Volume 56, Issue 4, October - December 2014, Pages 435-453.

Juste.C. (1988). **Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en trace du sol.** *Science du Sol* 1988 ; 26 : 103-112.

Kadmiri.M, K.Glouib, L.Verschaeve, A.Hilali. (2006). **Cytogenetic monitoring of domestic mammals exposed to wastewaters from the localities of Dladla and Boukallou near Settat, Morocco.** *Environment International*. Volume 32, Issue 5, July 2006, Pages 690-696.

Kazuichi.I, M.Udagawa, Y.Kimura, K.Sei, M.Ike. (2015). **Biological wastewater treatment of 1-4-dioxane using polyethylene glycol gel carriers entrapping *Afipia* sp.** *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Available online 11 July 2015.

Kanchev.I. **Venin d'abeille : Formation, composition et extraction.**
www.beewhisper.com.

Khairia.M. Al-Qahtani.K.M.**Water purification using different waste fruit cortexes for the removal of heavy metals.** *Journal of Taibah University for Science*. November. 2015.

Khan.S, Q.Cao, Y.M.Zheng, Y.Z.Huang, Y.G.Zhu. (2008). **Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China.** *Environmental Pollution*, 152 (3) (2008), pp. 686-692.

Kholtei.S, A.Bouzidi, M.Bonini, M.Fekhaoui, K.Sbai, R.Anane, et
E.E.Creppy.**Contaminations des eaux souterraines de la plaine de Berrechid dans la région de Chaouia, au Maroc, par des métaux présents dans les eaux usées :**

Effet de la pluviométrie. *VECTEUR environnement*. Volume 36 numéro 5, septembre 2003.

Kasiotis.K.M, P.Anastasiadou, K.Machera. **Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported deaChris Anagnostopoulsth incidents in honeybees.** *Science of the Total Environment*. Volumes 485-486, 1 July 2014, Pages 633-642.

Krayem.M, Deluchat.V, M.Rabiet, K.Cleries, J.F.Lenain, Z.Saad, V.Kazpard, P.Labrous. **Effect of arsenate As (V) on the biomarkers of Myriophyllum alterniflorumin oligotrophic and eutrophic conditions.** *Chémosphère*.147_ 2016.131-137.

Kwakman.P.H et Zaat.S.A. **Antibacterial components of honey.** *IUBMB Life*. 2012; 64: 48-55

Lemarchand.K. et Lebaron.P. (2002). **Occurrence of Salmonella spp. And Cryptosporidium spp. In a French coastal watershed: relationship with fecal indicators.** *FEMS Microbiol. Letters* 10775: 1-7.

Laplanche.A, M Bouvet, F Venien, G Martin. **Modélisation de l'évolution du parathion dans le milieu naturel sur un pilote de laboratoire -** *Water Research*, 1981

L'Economiste. **Chaouia-Ouadigha/Agriculture. Des performances, mais en demi-teinte.** Edition N° : 3851 Le 23/08/2012

Lambert.O, M. Piroux, S. Puyo, C. Thorin, M. Larhantec, F. Delbac, H. Pouliquen . 2012a **Bees honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination.** *Environmental Pollution* 170, 254-259.

Le Conte.Y, UMR INRA/UAPV. **Ecologie des Invertébrés.** Laboratoire Biologie et Protection de l'abeille Site Agro-parc - Domaine Saint-Paul. 84914 Avignon Cedex 9.

Laplanche.A, M.Bouvet, F.Venien, G.Martin, A.Chabrolles. **Modelisation de l'evolution du parathion dans le milieu naturel sur un pilote de laboratoire.** *Water Research*. Volume 15, Issue 5, 1981, Pages 599-607.

Latimer.J.W, Horwitz.W, editors. **Of Àcial methods of analysis.** 18 th ed. Washington DC, A.O.A.C. International press; (2005).

- Laurence.D-R et V.Jarlier. **Bactéries multirésistantes dans l'eau : modèles des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu.** *Revue Francophone des Laboratoires. Volume 2014, Issue 460, March 2014, Pages 75-79.*
- Lavie.P. **Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*Apis mellifica*).** *Les annales de l'abeille, INRA Editions, 1960, 3 (2), pp.103-183.*
- Leblebici.Z, Aksoy.A. (2008). **Determination of heavy metals in honey samples from Central Anatolia using plasma optical emission spectrofotometry (ICP-OES).** *Polish Journal of Environmental Studies 17, 549-555.*
- Leclech.B. (1998). **Environnement et Agriculture : 2ème édition.** Édition Synthèse Agricole.
- Lee.S, B.Lee, J.Kim, K.Kim, J.Lee .(2006). **Human risk assessment for heavy metals and as contamination in the abandoned metal mine areas, Korea.** *Environnemental Monitoring and Assessment, 119 (2006), pp. 233-244.*
- Lee.D-J, Pin-Jing He, Zheng Xiao, Li-Ming Shao, Ji-Yu Yu, Duu-Jong Lee. **In situ distributions and characteristics of heavy metals in full-scale landfill layers.** *Journal of Hazardous Materials. Volume 137, Issue 3, 2006, Pages 1385-1394.*
- Lequet.L. (2010) - **Du nectar à un miel de qualité : controles analytique du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculture amateur.** Thèse, Université CLAUDE-BERNARD - LYON I (Médecine - Pharmacie).
- Lewis.L.A, R.J. Poppenga, W.R. Davidson, J.R. Fischer, K.A. Morgan. (2001). **Lead toxicosis and trace element levels in wild birds and mammals at a firearms training facility.** *Environmental Contamination and Toxicology 41, 208-214.*
- Long.Y.Y, Dong-Sheng Shen, Hong-Tao Wang, Wen-Jing Lu, Yan Zhao . (2011). **Heavy metal source analysis in municipal solid waste (MSW): Case on Cu and Zn.** *Journal of Hasardous Materials. Volume 186.pp 1082-1087.*
- Lopareva-pohu.A. (2011). **Intérêt de la phytostabilisation aidée pour la gestion des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn).** Thèse pour obtenir le titre de Docteur de l'Université du Littoral Côte d'Opale. Le 26 avril 2011.
- Louveaux.J. (1985). **Les abeilles et leur élevage.** *Edition Opida. Pp : 165-181.*

- Luz.G-P.M, P.Plaza-Bolaños, R.Romero-González, J.L.Martínez-Vidal, A. Garrido-Frenich. **Comprehensive qualitative and quantitative determination of pesticides and veterinary drugs in honey using liquid chromatography-Orbitrap high-resolution mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A. Volume 12, 48, 27 July 2012, Pages 130-138.*
- Laurentie.M, Creff-Froger.C, Gaudin.V. **Surveillance des résidus d'antibiotiques. Apport des méthodes de spectrométrie de masse à l'identification des contaminants.** *Bull. Acad. Vét. de France, 2002, 155, p283-294 68*
- Laurentie.M, Sanders.P. **Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait.** *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires, 2002, 15, p197-201*
- Martel.A-C, P.Schweitzer, C.Cailteau, J-P.Faucon. **Les antibiotiques et l'apiculture. Conséquences sur la qualité sanitaire des miels.** *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, Société des experts-chimistes de France, 2009, 970, pp.19-33*
- Ma.Y, M.N.V.Prasad, M.Rajkumar, H.Freitas. (2011). **Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils.** *Biotechnology Advances, 29, pp. 248-258.*
- Monfort.P. (2006). **Microbiologie et coquillages.** IFREMER. Direction des Opérations Laboratoire Environnement Ressources-Concarneau
- Mac Farlane.G.R, C.E.Koller, S.P.Blomberg. (2007). **Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: a synthesis of field-based studies.** *Chemosphere, 69 (2007), pp. 1454-1464.*
- Muriano.A, V.Chabottaux, J-M. Diserens, B. Granier, F. Sanchez-Baeza, M.-P. Marco. **Rapid immunochemical analysis of the sulfonamide-sugar conjugated fraction of antibiotic contaminated honey samples.** *Food Chemistry. Volume 178, 1 July 2015, Pages 156–163*
- Maragou.N. 2016. **Pesticides and Herbicides: Types of Pesticide.** *Encyclopedia of Food and Health. 2016, Pages 319-325.*

- Marianna.B.Jorge, V.L.Loro, A.Bianchini, C.M.Wood, P.L.Gillis. **Mortality, bioaccumulation and physiological responses in juvenile freshwater mussels (*Lampsilis siliquoides*) chronically exposed to copper.** *Aquatic Toxicology*, Volume 126, 15 January 2013, Pages 137-147.
- Mbogning.E, J.Tchoumboue, F.Damesse, M.S.Sobze et A.Canini. **Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun.** *TROPICULTURA*, 2011, 29, 3, 168-175.
- Mendil.D, M.Karatas, M.Tuzen. **Separation and preconcentration of Cu(II), Pb(II), Zn(II), Fe(III) and Cr(III) ions with coprecipitation method without carrier element and their determination in food and water samples.** *Food Chemistry*. Volume 177, 15 June 2015, Pages 320-324.
- Merola.G, E.Martini, M.Tomassetti, L.Campanella. **New Immunosensor for Beta-lactam Antibiotics determination in river wastewaters.** *Sensors And Actuators. B199* (2014) 301-313
- Mihailović.M.M, D.Blogojević, N.Ogrinc, P.Simonović, V.Simić, M.Vidaković, S.Dinić, A.Uskoković, N. Grdović, J. Arambašić-Jovanović, M. Đorđević, A.Tolić, M. Kračun-Kolarević, S. Kolarević, M.Piria, Momir Paunović. **Biochemical indicators and biomarkers in chub (*Squalius cephalus* L.) from the Sava River.** *Science of the Total Environment* .Volume 540, 2016. Pages 368-376.
- Minic.Z, V.Serre, GuyH. **Adaptation des organismes aux conditions extrêmes des sources hydrothermales marines profondes.** *Comptes Rendus Biologies*, Volume 329, Issue 7, July 2006, Pages 527-540.
- Miroslava.K et L.Juhaniaková. **Microorganisms in confectionary products.** *Journal of Microbiology, Biotechnology*. 2011 (1) 57-69.
- Mohamed.H.H.Ali, K.M.Al-Qahtani. (2012). **Assessment of some heavy metals in vegetables, cereals and fruits in Saudi Arabian markets.***The Egyptian Journal of Aquatic Research*. Volume 38, Issue 1, 2012, Pages 31-37.

- Morris.R.D, et E.N.Naumova, R.Levin, and R.L.Munasinghe. (1996). **Temporal variation in drinking water turbidity and diagnosed gastroenteritis in Milwaukee.** *American Journal of Public Health. Volume 86, issue 2*
- Monkiewicz.J. et S.Jaczewski. **Rozmieszczenie ołowiu w tuszy dzików w zależności od odległości od rany postrzałowe.** *Med. Weter., 46 (6) (1990), pp. 187-188.*
- Monna.F. (2008). **Cycles biogéochimiques des éléments traces métalliques aux interfaces de l'environnement.** Habilitation à Diriger des Recherches. Université de Bourgogne. UMR 5594 ARTeHIS Ecole doctorale E2S.10 Décembre 2008.
- Montiel.A. **Contrôle et préservation de la qualité microbiologique des eaux : traitements de désinfection.** *Revue Française des Laboratoires. Volume 2004, Issue 364, June 2004, Pages 51-53*
- Mouvet.C. (1986). **Métaux lourds et mousses aquatiques, synthèse méthodologique.** Laboratoire d'écologie. Univ.de Metz. Agence de l'eau Rhin-Meuse (France).
- Muchuweti.M, J.W.Birkett, E.Chinyanga, R.Zvauya, M.D.Scrimshaw, J.N.Lester.(2006). **Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: implication for human health.** *Agriculture, Ecosystems and Environment, volume 112,pp. 41-48.*
- Mwangi.I.W, J.C.Ngila. (2012). **Removal of heavy metals from contaminated water using ethylenediamine-modified green seaweed (*Caulerpa serrulata*).** 12th WaterNet/WARFSA/GWP-SA Symposium: Harnessing the rivers of knowledge for socio-economic development, climate adaptation & environmental sustainability. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C. Volumes 50-52, 2012, Pages 111-120.
- Nabulo.G, C.R.Black, S.D.Young (2011). **Trace metal uptake by tropical vegetables grown on soil amended with urban sewage sludge.** *Environmental Pollution. Volume 159,pp 368-376.*
- Nahmani.J, J-P.Rossi. **Les macroinvertébrés du sol en tant qu'indicateurs de pollution du sol par les métaux lourds.** *C. R. Biologies 326 (2003) 295-303.*

- Nassouri.A.S F. Archambeaud , R.Desailoud . **Perturbateurs endocriniens : échos des congrès d'Endocrinologie 2012.** *Annales d'Endocrinologie. Volume 73, Supplement 1*, October 2012, Pages S36-S44
- Naug.D. **Nutritional stress due to habitat loss may explain recent honeybee colony collapses.** *Biological Conservation. Volume 142, Issue 10*, October 2009, Pages 2369–2372
- Nakano.H. et Sagaguchi.G. (1991). **An unusually heavy contamination of honey products by Clostridium botulinum type F and Bacillus alvei.** *FEMS Microbiol. Letters*, 79,171-178.
- Nanda.V, B.C.Sarkar, Sharma.H.K, Bawa.A.S.**Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India.** *Journal of Food Composition and Analysis. Volume 16, Issue 5*, October 2003, Pages 613-619.
- Naseri.M, A.Vazirzadeh, R.Kazemi, F.Zaheri. (2015). **Concentration of some heavy metals in rice types available in Shiraz market and human health risk assessment.** *Food Chemistry. Volume 175*, 15 May 2015, Pages 243-248.
- Nayek.S. (2010). **Metal accumulation and its effects in relation to biochemical response of vegetables irrigated with metal contaminated water and wastewater.** *Journal of Hazardous Materials. Volume 178, Issues 1-3*, 2010, Pages 588-595.
- Nehring.R.B, (1976). **Aquatic insects as biological monitors of heavy metal pollution.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 15*, 147-154.
- Nelson.M.B.C. Wolverson. **Plants + soil/wetland microbes: Food crop systems that also clean air and water.** *Advances in Space Research 47* (2011).582-590.
- Nicholson.F.A, S.R.Smith, B.J.Alloway, C.Carlton-Smith, B.J.Chambers. (2003). **An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales.** *Science of the Total Environment Volume 311, Issues 1*, Pages 205-219.
- Nogueira.V, I.Lopes, A.C.Freitas, T.A.P.Rocha-Santos, F.Gonçalves, A.C.Duarte, R. Pereira. (2015). **Biological treatment with fungi of olive mill wastewater pre-**

- treated by photocatalytic oxidation with nanomaterials.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 115, May 2015, Pages 234-242.
- Noor-ul-Amin, A. Hussain, S. Alamzeb, S. Begum. **Accumulation of heavy metals in edible parts of vegetables irrigated with wastewater and their daily intake to adults and children, District Mardan, Pakistan.** *Food Chemistry*. Volume 136, Issues 3-4, 1-15 February 2013, Pages 1515-1523.
- Nriagu, J.O., Blankson, M.L., Ocran, K., (1996). **Childhood lead poisoning in Africa: a growing public health problem.** *Science of the Total Environment* 181, 93-100.
- Nurchi.V.M, G.Crisponi, I.Villaescusa. (2010). **Chemical equilibria in wastewater during toxic metal ion removed by agricultural biomass.** *Coordination Chemistry Reviews*.pp 2181-2192.
- Nurchi.V.M.G et Villaescusa.I. (2011). **Sorption of toxic metal ions by solid sorbants: A predictivespeciation approach on complex formation constants inaqueous solution.** *Coordination Chemistry Reviews*. Volume 256, Issues 1–2, January 2012, Pages 212–221
- Nassouri.A.S, F.Archambeaud , R.Desaillood. **Perturbateurs endocriniens : échos des congrès d’Endocrinologie 2012.** *Annales d’Endocrinologie*. Volume 73, Supplement 1, October 2012, Pages S36-S44
- Nurhanan.A.R et W.I.W.Rosli. (2014). **Nutritional compositions and antioxidative capacity of the silk obtained from immature and mature corn.** *Journal of King Saud University - Science*, Volume 26, Issue 2, 2014, Pages 119-127.
- Oktem.A. (2008). **Effect of water shortage on yield, and protein and mineral compositions of drip-irrigated sweet corn in sustainable agricultural systems.** *Agricultural Water Management*, Volume 95, Issue 9, Pages 1003-1010.
- O.M.S. (2004). **Directives pour la sécurité des eaux de baignade** - Volume 1. Eaux côtières et eaux douces

- Overmann.S.R., Krajicek.J.J. (1995). **Snapping turtles (*Chelydra serpentina*) as biomonitors of lead contamination of the Big River in Missouri's old lead belt.** *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 689-695
- Olowoyo.J.O, O.O.Okedeyi, N.M.Mkolo, G.N.Lion, S.T.R.Mdakane. (2011). **Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa.** *South Africa Journal of Botany. Volume 78*, January 2012, Pages 116–121
- O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé). (2004). **Directives pour la sécurité des eaux de baignade** - Volume 1. Eaux côtières et eaux douces.
- Oteiza.P.I., G.G.McKenzie. (2005). **Zinc, oxidant-triggered cell signaling and human health.** *Molecular Aspects of Medicine*, 26 (2005), pp. 245-255.
- Pagnanelli.F, Mainelli.S, Bornoroni.L, Dionisi.D, Toro.L. (2009). **Mechanisms of heavy-metal removal by activated sludge.** *Chemosphere* 2009 ; 75 : 1028-1034.
- Portères.R. **L'Introduction du Maïs en Afrique.** *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée. 1955 Volume 2 Numéro 5* pp. 221-231
- Park.C.Y, H-A.Eicher-Miller. **Iron Deficiency Is Associated with Food Insecurity in Pregnant Females in the United States: National Health and Nutrition Examination Survey. 1999-2010.** *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics.*Volume 114, Issue 12, December 2014, Pages 1967-1973.
- Park.B.Y, J.K.Lee, HM.Ro, YH.Kim. (2011). **Effects of heavy metal contamination from an abandoned mine on nematode community structure as an indicator of soil ecosystem health.** *Applied Soil Ecology. Volume 51.*pp.17-24.
- Pastor-Belda. M, I. Garrido, N. Campillo, P. Vinas, P. Hellín, P. Flores, J. Fenoll. **Dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of new generation pesticides in soils by liquid chromatography and tandem mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A.* 1394 (2015) 1-8.
- Paradis.D. **Méthode d'analyse dans le miel de trois familles d'insecticides (nicotinoïdes, pyréthri-noïdes et pyrazoles) par chromatographies en phase gazeuse et en phase**

liquide couplées à la spectrométrie de masse en tandem : application à l'étude de contamination de ruches. *Thèse de doctorat. Université Aix-Marseille (2012).*

Payment.P et P.Hartemann. **Les contaminants de l'eau et leurs effets sur la santé.** *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science. Volume 11, numéro hors série, 1998, p. 199-210*

Pedersen.K.B, P.E.Jensen, L.M.Ottosen, T.Lejon. (2015). **An optimised method for electrodialytic removal of heavy metals from harbour sediments.** *Electrochimica Acta. Volume 173, 10 August 2015, Pages 432-439.*

Pellerano.R.G, M-A.Uñates, E-J.Marchevsky. **Analysis of trace elements in multifloral Argentine honeys and their classification according to provenance.** *Food Chemistry. Volume 134, Issue 1, 2012, Pages 578-582.*

Piazza.MG, M.Accorti, L.Persano.Oddo. (1991). **Electrical conductivity, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys.** *Apicultura 7, 51.63.*

Pichard.A, M.Bisson, C.Hulot, J.P.Lefèvre, H.Magaud. (2003). **Plomb et ses dérivés. Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques.** INERIS.Version N°2-1/2003, 1-90.

Pisani.A, G.Protano, F.Riccobono. (2008). **Minor and trace elements in different honey types produced in Siena County (Italy).** *Food Chemistry 72, 89-95.*

Pohl.P, I.Sergiel, B.Prusisz. **Direct analysis of honey for the total content of Zn and its fractionation forms by means of flame atomic absorption spectrometry with solid phase extraction and ultrafiltration approaches.** *Food Chemistry. Volume 125, Issue 4, 15 April 2011, Pages 1504-1509.*

Popescu.G et L.Pasăre. (2006). **Séparation des métaux lourds existants dans les eaux usées.** 2006. *Anale Universităţii din Bucureşti.*

Programme de biosurveillance. **Evaluation de la qualité de l'air autour de l'Unité de Valorisation Energétique de Pontarlier.** Campagne de mesures du 2 mai au 13 juin 2017.

- Przybyłowski.P, Wilczyńska.A. 2001. **Honey as an environmental marker.** *Food Chemistry*.74, 289-291.
- Pucciarelli.A.B, M.E.Schapovaloff, S.Kummritz, I.A.Señuk, L.A.Brumovsky, A.M.Dallagnol. (2014). **Microbiological and physicochemical analysis of yateí (Tetragonisca angustula) honey for assessing quality standards and commercialization.** *Rev Argent Microbiol.* 2014; 46(4):325-332.
- Quantin.C, V.Ettler, J.Garnier, O.Šebek. (2008). **Sources et extractibilité du chrome et du nickel dans les sols développés sur serpentinites tchèques.** *Comptes Rendus Geoscience, Volume 340,* Issue 12, 2008, Pages 872-882.
- Rainbow.P.S. et Luoma.S.N. (2011). **Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates-Modelling Zinc in crustaceans.** *Aquatic Toxicology, volume 105*.pp. 455-465.
- Rajkumar.M, M.N.V.Prasad, H.Freitas. (2010). **Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextractio.** *Trends in Biotechnology,* 28 (2010), pp. 142-149.
- Remon.S. **Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution.** Université Jean Monnet. Faculté des Sciences et Techniques. Thèse de Doctorat 2006
- Roberts.J.R, C.J. Karr (2012). **"Pesticide exposure in children".** *Pediatrics* 130(6): e1757-63. 2012. Doi:10.1542/peds.2012-2757. PMID 23184103.
- Robert.M. **Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour le développement.** Elsevier Masson. 1969.
- Roberto Gerardo Pellerano, M.A.Cantarelli, Uñates M-A, J-M.Camina, E-J. Marchevsky. **Analysis of trace elements in multifloral Argentine honeys and their classification according to provenance.** *Food Chemistry. Volume 134,* Issue 1, 1 September 2012, Pages 578-582.

- Robinson.B.H, Banuelos.G, Conesa.H.M, Evangelou.M.W.H, Schulin.R. (2009). **The phytomanagement of trace elements in soil.** *Critical Reviews in Plant Sciences* 2009; 28: 240-266.
- Rodríguez.García.J.C, J.Barciela.García, Herrero.Latorre.C, M.Freire.Rodríguez, S. García.Martín, R.M.Peña.Creciente.**Comparison of palladium-magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for cadmium determination in honey samples by electrothermal atomic absorption spectrometry.** *Talanta. Vol 61, Issue 4, 2003, Pages 509-517.*
- Roman.A, B.M.Majewska, E.Popiela-Pleban. (2011). **Comparative study of selected toxic elements in propolis and honey.** *Journal of Apicultural Science* 55, 97-106.
- Rompré.A, P.Servais, J.Baudart, M-R.de-Roubin, P.Laurent. **Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches.** (2012). *Journal of Microbiological Methods. Volume 49, Issue 1, Pages 31-54.*
- Rosa.E.Raudales, J.L.Parke, C.L.Guy, P.R.Fisher. **Control Of waterborne microbes in irrigation: A Review.** *Agricultural Water Management. 143 (2014)9-28.*
- Rudy.M. (2009). **The analysis of correlations between the age and the level of bioaccumulation of heavy metals in tissues and the chemical composition of sheep meat from the region in SE Poland.** *Food and Chemical Toxicology. Volume 47, Issue 6, June 2009, Pages 1117-1122.*
- Sabir.M, M.Zia-ur-Rehman, M.Rizwan, Saifullah, Hamaad Raza ahmad, M.Nadeem. **Chapter 13-Remediating Cadmium-Contaminated Soils by Growing Grain Crops Using Inorganic Amendments Soil Remediation and Plants.** *Prospects and Challenges. 2015, Pages 367-39.*
- Salvia.M-V, E.Vulliet, L.Wiest, R.Baudot, C.Cren-Olivé. (2011). **Développement d'une méthode d'analyse basée sur une extraction QuEChERS simple et rapide suivie d'une analyse par LC-MS/MS pour la détermination d'hormones et composés vétérinaires à l'état de traces dans le sol.** *hal.archives-ouvertes.fr/hal-00591957*
- Salazar.M.J, J.H.Rodriguez, G.L.Nieto, M.L.Pignata. (2012). **Effects of heavy metal concentrations (Cd, Zn and Pb) in agricultural soils near different emission**

- sources on quality, accumulation and food safety in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill].** *Journal of Hazardous Materials. Volumes 233-234*, 30 September 2012, Pages 244-253.
- Sudhanshu.S, S.Gautam, A.Sharma. (2010). **Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys.** *Food Chemistry*, 118 (2010), pp. 391-397.
- Sbartai.H, M-R.Djebar, I.Sbartai, H.Berrabbah. **Bioaccumulation du Cd et du Zn chez les plants de tomates (*Lycopersicon esculentum*L.).** *Comptes Rendus Biologies. Volume 335, Issue 9*, September 2012, Pages 585-593.
- Schlerka.G, M.Schuh. (1992). **Akute Bleivergiftung bei Rindern.** *Wien. Tierarztl. Monat*, 79 (12) (1992), pp. 382-384.
- Sharpe.R.J, L.C.Heyden. **Honeybee colony collapse disorder is possibly caused by a dietary pyrethrum deficiency.** *Bioscience Hypotheses. Volume 2, Issue 6*, 2009, Pages 439–440
- Shendy.A.H, M.A.Al-Ghobashy , S.A.Gad Alla, H.M.Lotfy. **Development and validation of a modified QuEChERS protocol coupled to LC–MS/MS for simultaneous determination of multi-class antibiotic residues in honey.** *Food Chemistry. Volume 190*, 1 January 2016, Pages 982–989
- Stoltz.R. **Les résidus d’antibiotiques dans les denrées d’origine animale : évaluation et maîtrise de ce danger.**2008. Thèse pour obtenir le grade de docteur d’université. Université Claude-Bernard – Lyon I
- Salvador-Blanes.S, S.Cornu, M.Hardy, I.Gay-Ovejero, V.Deschatrettes, D.Baize , D.King. (2001). **Influence des substrats et des formations de versant sur la variabilité spatiale des teneurs naturelles en chrome de sols issus de roches métamorphiques.** *Comptes Rendus de l’Academie des Sciences Series IIA - Earth and Planetary Science, Volume 332, Issue 11*, 15 June 2001, Pages 681-687.
- Seeliger.U, R.B.Knak. (1982). **Estuarine metal monitoring in Southern Brazil.** *Mar. Pollut. Bull.*, 13 (1982), pp. 197-206.

- Seixas.T.G, I.Moreira, S.Siciliano, O.Malm, H.A.Kehrig. **Mercury and selenium in tropical marine plankton and their trofic successors.** *Chemosphere, Volume 111*, September 2014, Pages 32-39.
- Selivanovskaya.S.Y et Latypova.V. (2003).**The use of bioassays for evaluating the toxicity of sewage sludge and sewage sludge-amended soil.** *J. Soil. Sediment*, 3 (2) (2003), pp. 85-92.
- Tengfei.F, C.Chen, T.Fan, F.Liu, Q.Peng. **Novel surface-active ionic liquids used as solubilizers for water-insoluble pesticides** - *Journal of hazardous materials*, 2015
- Toullec.A.N.K. **abeille noire, Apis mellifera mellifera, Historique et Sauvegarde.** Thèse de Doctorat vétérinaire. 2008. LA Faculté de médecine de CRETEIL.
- Thanasarakhan.W, S.Kruanetr, R.L.Deming, B.Liawruangrath, S.Wangkarn, S.h.Liawruangrath **Sequential injection spectrophotometric determination of tetracycline antibiotics in pharmaceutical preparations and their residues in honey and milk samples using yttrium (III) and cationic surfactant.** *Talanta. Volume 84, Issue 5*, 15 June 2011, Pages 1401–1409
- U.S.D.H.H.S.P.H.S.A. U.S. Department of Healt and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. April 2004.
- Van Hoi.B. (2013). **Contribution à l'étude de la présence et du devenir des résidus de médicaments dans les compartiments aquatiques.** Thèse.Université de Bordeaux1
- Vie.J.C. **Le jour où l'abeille disparaîtra...**Paris : Ed. Arthaud, 2008, 218p.
- Walorczyk.S. **Development of a multi-residue screening method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chroma-tography-triple quadrupole tandem mass spectrometry.** *J. Chromatogr. A* 1165 (2007) 200-212.
- Wenli.G, J.Zhang, W.Li, M.Xu, S.Liu. **Disruption of iron homeostasis and resultant health effects upon exposure to various environmental pollutants: A critical review.** *Journal of Environmental Sciences.*Volume 34, 1 August 2015, Pages 155-164.

- Werner.A, O.Laccourreya. **Le miel en oto-rhino-laryngologie : quand, pourquoi et comment ?** *Annales françaises d'Oto-rhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale*. Volume 128, Issue 3, June 2011, Pages 153–157
- Weston.D.P, Da Chen, M.J.Lydy. **Stormwater-related transport of the insecticides bifenthrin, fipronil, imidacloprid, and chlorpyrifos into a tidal wetland, San Francisco Bay, California.** *Science of the Total Environment*. Volumes 527–528, 15 September 2015, Pages 18–25
- W.H.O. (World Health Organization). (2005). **Manganese and its compounds: environmental aspects.** Concise International Chemical Assessment Document - CICAD- 63, World Health Organization, Genève (CH).
- Xin-Ying Zhou, T.Zhang, L.Ren, J-J Wu, W.Wang, J-X.Liu. **Copper elevated embryonic hemoglobin through reactive oxygen species during zebrafish erythrocytogenesis.** *Aquatic Toxicology*. Volume 175, June 2016, Pages 1-11.
- Yang.H.K., S.H. Lee, K. Han, B. Kang, S.Y. Lee, K.H. Yoon, H.S. Kwon, Y.M. Park. **Lower serum zinc levels are associated with unhealthy metabolic status in normal-weight adults: The 2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey.** *Diabetes & Metabolism*. Volume 41, Issue 4, September 2015, Pages 282-290.
- Yang.Y, F-S.Zhang, H-F.Li, R-F.Jiang. **Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils.** *J. Environ. Manage.*, 90 (2009), pp.1117-1122.
- Zaviska.F, P.Drogui, G.Mercier, J-F.Blais. **Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels : Application à la dégradation des polluants réfractaires.** *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*. Volume 22, numéro 4 (2009), p.535-564.