

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



UNIVERSITE BLIDA 1
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département De Biotechnologie

MEMOIRE

En Vue De L'obtention Du

Diplôme de MASTER Académique

En Biotechnologie Végétale

Thème

Etude de l'activité biologique de l'huile essentielle de l'oranger sur le parasite de l'abeille (*Varroa Jacobsoni*)

Présenté par :

- M^{elle} MEZIANE Zahira Imane
- M^{elle} ESCHROUGUI Asma

Soutenu le : Le 02-07-2020, Devant le jury composé de:

Promotrice	M ^m KEBOUR D	Pr	Université de Blida
Examineur	M ^r ABBAD M	M.C.A	Université de Blida
Président	M ^r BOUTAHRAOUI S.A	M.C.B	Université de Blida

Année universitaire : 2019/2020

Résumé :

le but de ce travail est l'étude d'effet acaricide de l'application d'un traitement a base d'huile essentielle de l'orange *Washington navel* sur *varroa* parasite d'abeille tellienne d'*Apis mellifera intermissa* par l'estimation de la mortalité provoquée par une dose de 0,15% pour neutraliser ce parasite en fin la protection d'abeille qui est une source économique importante en Algérie et pour favoriser le développement du secteur algérien des plantes aromatique et offrent une alternative a la thérapie chimique pour les abeilles.

Mots clés : *varroa jacobsoni*, abeille (*Apis mellifera intermissa*), *Washington navel* huile

Abstract:

he aim of this work is to study the acaricidal effect of the application of a treatment based on the essential oil of orange *Washington navel* on *varroa* parasitic bee of *Apis mellifera intermissa* by estimation of the mortality caused by a dose of 0.15% in order to neutralize this parasite in the end the protection of bees which is an important economic source in Algeria and to favor the development of the sector Algerian aromatic plants and offer an alternative to chemical therapy for bees.

Mots clés : *varroa jacobsoni*, bee (*Apis mellifera intermissa*), *washington navel* essential oil.

ملخص :

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير مبيدات الحشرات بتطبيق علاج يعتمد على الزيت العطري لبرتقال واشنطن السرة على طفيلي نحل فاروا (*Apis mellifera intermissa*) عن طريق تقدير معدل وفيات الطفيلي الناتج عن جرعة 0.15% لإبطال مفعول هذا الطفيلي في النهاية حماية النحل التي تعد مصدراً اقتصادياً مهماً في الجزائر ولتعزيز تنمية القطاع الجزائري للنباتات العطرية وتقديم بديل للعلاج الكيميائي للنحل.

الكلمات الأساسية: فاروا جاكوبسون ، النحل (*Apis mellifera intermissa*) الزيوت الاساسية, واشنطن السرة .

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts:

*A ma très chère mère Naïma et Mon père Ali :
pour leurs soutient moral et leurs amour durant
toute ma vie.*

*A mes chers frères et sœurs: Imade, AbdElrahmen,
Raytha*

A toute ma famille

A mon Fiancé : pour sa présence ma coté

Ames chères amis : Maroua, sihem, zineb

*A mon binôme imane : grande merci de m'avoir
aide*

Asma

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts:

A ma grand mère méssaouda : source de ma joie et pour leurs soutient moral et leurs amour durant toute ma vie.

A ma tante : Fatíha

A toute ma famille : Meziane et guelagli

A mes oncles : Abdelkader, Raouf

A mes chères amies : zineb, fatima

A mon binôme Asma : pour tous les instants inoubliables que j'ai passé avec elle

Imane

Liste des figures

Figure I.1 : Structure générale d'une abeille (Mechez <i>et al.</i> 2004).....	18
Figure I.2 : l'œuf à l'abeille adulte (Tourneret, 2013).....	19
Figure I.3 : œufs (LeConte, 2011).....	20
Figure I.4 : larve (Spürgin, 2010).....	21
Figure I.5 : nymphe (Spürgin, 2010).....	21
Figure I.6 : Schéma des trois castes de l'abeille (Rasolofoarivao, 2014).....	23
Figure I.8 : La localisation d' <i>Apis mellifera</i> en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon, 1994).....	27
Figure II.1 : <i>Varroa jacobsoni</i> a) visage de la femelle adulte. (b) visage de la femelle adulte(Vandame, 1996)	30
Figure II.2 : Vues ventrales et dorsales de femelles adultes <i>V. jacobsoni</i> (Anderson et Trueman, 2000)	30
Figure II.3 : Femelle de varroa sur l'abeille du stade larvaire (COLIN., 1982).....	32
Figure II.4 : Cycle de vie de <i>Varroa jacobsonion</i> sur <i>Apismellifera</i> (Martin, 1994) (Martin.,1994).....	34
Figure II.5 : Répartition géographique actuelle de <i>Varroa jacobsoni</i> .(FERNANDEZ.,2002).....	35
Figure III.1 : Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inferieure de la feuille d' <i>Origanum vulgare</i> (Svoboda <i>et al.</i> , 2000).....	46
Figure III.2 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation (Cazau-Beyret ,2013).....	50
Figure IV.1 : Washington navel (Toni Siebert et David Karp, 2010)	57
Figure VI.2 : Présentation de la colonie d' <i>Apis Mellifera Intermissa</i>	61
Figure VI.3 : Abeille infestée par le varroa.....	62
Figure VI.4 :le varroa Jacobsoni.....	62
Figure VI.5 : Disposition des ruches sur le site.....	63
Figure VI.6 : Matériel d'hydrodistilation employé pour l'extraction de l'huile essentielle de washington navel.....	65
Figure VI.7 : Préparation des doses des huiles essentielles.....	67

Liste des tableaux

Tableau I.1: le temps nécessaire au développement des différentes castes de la ruche (Ravazzi, 2007).....	24
Tableau II.1: Importance de l'infestation de varroa selon le dénombré par le décompte à l'alcool Source: Ritter (1983) cité par Robaux (1986).....	38/39
Tableau II.2: Description botanique des oranges (Bachès, 2011).....	39
Tableau IV.4: Le protocole expérimental de traitement.....	58
Tableau VI.1 : Le protocole expérimental de traitement.....	67

Remerciements

Avant tout, nous remercions *ALLAH* le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la patience pour faire ce travail. Mes plus vifs remerciements à *M^m Kebour djamila* Notre promotrice Pour ses précieux conseils et ses encouragements.

Je souhaite également remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et tout particulièrement : *Mr Boutahraoui* voir accepté d'en être le président.

Je remercie également les examinateurs de ce travail : *Mr Abbed* remercions également tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail. Pour tous la promotion de *biotechnologie végétale 2019/2020*.

Imene et Asma

Sommaire

Liste des abréviations

Résumé

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Remerciements

Sommaire

INTRODUCTION GENERAL.....13

Chapitre I

I.1.L'apiculture.....17

I.2.Définition de l'abeille.....17

I.3.CLASSIFICATION ET SYSTIMATIQUE DE L'ABEILLE.....17

I.4.Morphologie.....18

I.4.1.La tête.....19

I.4.2.L'abdomen.....19

I.4.3.Le thorax.....19

I.5.Stade de développement.....19

I.5.1. L'œuf.....20

I.5.2. La larve.....20

I.5.3.La nymphe.....21

I.5.4. L'imago et l'émergence.....22

I.6. La colonie d'abeilles.....22

I.7.Cycles de vie de la reine, des ouvrières et des faux-bourçons.....24

I.8.Situation actuelle de l'apiculture	25
I.8.1.Dans le monde	25
I.8.2.Dans l'Algérie	25
I.9.les races d'abeilles	26
I.9.1.Les principales races dans le monde	26
I.9.2.Les principales races en l'Algérie	26
I.9.2.1.Apis mellifera intermissa ou abeille commune	26
I.9.2.2.Apis mellifera sahariensis ou encore abeille saharienne	26

Chapitre II

II.1.Généralité	29
II.2.Classification systématique de <i>V. jacobsoni</i>	31
II.3.Morphologie du varroa	31
II.3.1.Femelle varroa	31
II.3.2.Le mâle	32
II.3.3.Les œufs	32
II.3.4.Les protonymphes	33
II.3.5.Les deutonymphes	33
II.4.Cycle évolutif du varroa vis –vis de celui de l'abeille	33
II.5.Distribution de la maladie	34
II.5.1. Dans le monde	34
II.5.2 En Algérie	35
II.6.Les symptômes	35
II.7.Les modalités de l'infestation	36
II.8.Conséquences de la présence du varroa sur les colonies d'abeille	36
II.8.1Action mécanique et irritative	37
II.8.2.Action spoliatrice	37

II.8.3. Action vectrice	37
II.9. Les méthodes de lutte	38
II.9.1.1. Méthode de dépistage simplifiée	38
II.9.1.2. Test à l'acide formique	38
II.9.1.3. Décompte sur les abeilles	38
II.9.2. La lutte chimique	39
II.9.2.1. Les produits	39
II.9.2.2. Thermothérapie	40
II.9.3. Lutte physique	40
II.9.4. Moyens de lutte biologique	40
II.9.4.1. Application des acides organiques	40
II.9.4.2. Acide formique	41
II.9.4.3. Acide oxalique et acide lactique	41

Chapitre III

III.1. Généralités sur les huiles essentielles	43
III.2. Définition des huiles essentielles	43
III.3. Répartition, localisation et fonction	44
III.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	46
III.5. Composition chimique	47
III.6. L'utilisation des huiles essentielles	48
III.7. Conservation des huiles essentielles	48
III.8. Toxicité des huiles essentielles	48
III.9. Les méthodes des extractions	49
III.9.1. La distillation	49
III.9.2. L'hydrodistillation	49
III.9.3. La distillation à la vapeur	51

III.9.4 .L'extraction par les solvants volatils.....	52
III.9.5.L'extraction par expression.....	53
III.9.6.L'extraction par micro-ondes.....	52
III.9.8.L'extraction par enfleurage.....	54

Chapitre IV

IV.1.Historique.....	56
IV.2.Définition de Washington Navel.....	56
IV.3.Fiche technique de variété Washington Navel.....	56
IV.4.Description botanique.....	57

Chapitre VI

VI .1. Objectif du travail	60
VI.2. Etude de l'efficacité d'huile essentielle d'oranger sur <i>le varroa</i> Jacobsoni parasite d'Apis Mellifera Intermissa	60
VI.2.1.Présentation de la zone d'étude	60
VI.2.1.a. Critères de choix du site	60
VI.2.1.b. Présentation du site.....	61
VI.2.1.c. Les conditions de travail.....	61
VI.2.2. Matériel biologique.....	61
VI.2.2.1. Matériel animal.....	61
VI.2.2.1.a. Les abeilles (l'espèce hôte de l'acarien).....	61
VI.2.2.1.b. Le parasite.....	62
VI.2.2.2. Matériel végétal.....	63
VI.2.3.Matériel non biologique.....	63
VI.2.3.1. Matériels apicoles	63
VI.2.3.2 Matériel de laboratoire	64

VI.2.4. Méthode	64
VI.2.4.1. Méthodes d'extraction	64
VI.2.4.2. Détermination du rendement en huile essentielle	65
VI.2.4.3. Préparation des doses des huiles essentielles	66
VI.2.4.4. Présentation des lots expérimentaux	67
VI.2.4.5. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie	67
Conclusion	69
Référence.....	71

INTRODUCTION

Introduction

L'abeille domestique ou abeille à miel (*Apis Mellifera*) fait partie de notre patrimoine Elle est apparue sur terre il y a près de 100 millions d'années (FAO ,2009).

Les abeilles produisent des produits utilisés comme des produits phytothérapeutiques et intégrés dans la production des cosmétiques, Leur rôle est aussi considérable dans l'assurance de la biodiversité végétale par la pollinisation de plus de 80 des espèces de plantes à fleur (Arcaro, 2010). Ainsi dans le maintien de l'équilibre écologique. D'après **Jasse**, 1994, sans l'abeille, nous risquons de perdre la nature, la richesse de la faune et la flore, et l'être humain.

Elle nous alerte sur l'état de santé de milieu naturel, un peu comme un marqueur biologique. La gestion des matières premières renouvelables serait impossible sans l'abeille. Et participe à la qualité d'un grand nombre d'espèces cultivées, sont dépendants l'un de l'autre. Sans l'abeille il n'y pas d'agriculture durable.

L'efficacité polinisatrice des abeilles est redoutable du fait de son organisation. On estime que ' une colonie peut visiter en une journée plusieurs millions de fleurs et que pratiquement les abeilles ne se négligent aucune fleur. Grace à elles nous pouvons consommer des aliments riches en vitamines et profiter des fleurs. Sans les abeilles contribuent de manière essentielle à notre qualité de vie .Mais les abeilles ne vont pas très bien ,les pertes sont considérable .Cet insecte précieux, subit des attaques parasitaire féroces qui nuisent à sa santé et son existence ceci est devenue inquiétant depuis quelques années quand leur taux de mortalité atteint 30 à 35 ,taux anormalement élevé, et qui peut atteindre dans certains cas 50 de pertes en périodes hivernales et 30 à 40 de pertes en période printanières (Boucher, 2010)

Une conjoncture de plusieurs facteurs semble expliquer ce problème, mais l'on pointe en première ligne les aléas climatiques (chute de température, neige, sécheresse) et les maladies parasitose engendrée par le *varrao* agent de la varroise.

Cette dernière causée par l'acarien *Varrao jacobsoni* qui considéré actuellement, et à juste titre, par tous les apiculteurs, comme étant le parasite le plus dangereux de l'abeille domestique *Apis mellifera*, il soumet l'abeille adulte et son couvain à des agressions

physiques, à des perturbations du comportement, et aux effets spoliation et de vecteur. Il cause alors des pertes économiques en réduisant la quantité de la production apicole.

La *varroise* a traversé presque tout le territoire Algérien en 1981. Venu d'Asie via l'Europe, elle met à présent le cap à l'ouest du Maghreb et au sud du Sahara. Sur son passage certains apiculteurs algériens ont perdu de 30 à 50% de leur cheptel en 1991, ainsi que la production qui n'atteint seulement que 40 000 à 50 000 tonnes (Ikhale, 2011) avec une consommation ne dépassant pas les 200 à 350g par an par habitant (Ouyahia, 2003; Boukhalfa *et al.*, 1991), qui font que ces résultats sont insuffisants pour couvrir les besoins nationaux.

Les chercheurs (Drajuadel *et al.*, 2007). (Hachem, 2000 et Abed *et al.*, 1993) montrent que l'utilisation des acaricides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus adaptée pour lutter contre le *varroa* à cause de son efficacité et son application rapide et facile, cependant que leur emploi intensif crée des générations de *varroa* résistantes à ces produits, et en plus ils peuvent provoquer une pollution des produits des ruches et l'affaiblissement des colonies, ils sont toxiques, non seulement pour les abeilles, mais également pour les produits de la ruche.

Dans ce contexte, l'orientation vers la lutte biologique avec des moyens naturels tels que les huiles essentielles des plantes aromatiques offre une solution valide car leur présence est normale dans l'ambiance de la ruche. (Colin *et al.*, 1990). Ont montré que de nombreuses huiles essentielles végétales ont un effet antiparasite, elles agissent sur le comportement et le développement de certains arthropodes et parfois et mortelles. Donc en cours d'utilisation il faut respecter la posologie et le mode d'administration de ces extraits.

CHAPITRE I

I.1.L'apiculture :

L'apiculture est l'art de cultiver les abeilles dans le but de retirer de cette industrie le maximum de rendement avec le minimum de dépenses (Warré, 2005). Les produits apicoles commercialisés sont le miel, la cire, le pollen, la propolis et la gelée royale. Cette activité d'appoint contribue au développement de l'élevage et à la protection de l'environnement (Cran, 1990).

I.2.Définition de l'abeille :

Le mot « abeille » vient du nom latin *Apis* qui signifie la « mouche à miel », elle fait partie des insectes sociaux. Il existe plus de 20000 espèces d'abeilles qui sont d'un intérêt majeur pour la pollinisation, ainsi que dans la survie, la dissémination et l'évolution de 80% de plantes à fleurs. (Vaissière, 2006).

Apis mellifera ou abeille mellifique, est une espèce dont les diverses races sont cultivées pour produire du miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis, de la cire et dans certains cas, du venin. Parmi ces différentes races, la plus productive et la plus appréciée est sans aucun doute la *linguistica*, connue dans le monde entier sous le nom d'abeille italienne. Du point de vue morphologique, le corps de l'abeille se divise en trois parties : tête, thorax et, Abdomen. (Ravazzi, 2007).

I.3.CLASSIFICATION ET SYSTIMATIQUE DE L'ABEILLE :

- Embranchement : Arthropode
- Sous –embranchement : Antennate ou Mandibulate
- Classe : Insecte
- Ordre : Hyménoptère
- Sous-ordre : Apocrite
- Infra-ordre : Aculéate
- Super famille : Apoidea
- Famille : Apidae supérieur
- Sous famille : Apinae

- Tribu : Apini
- Genre : Apis
- Espèce : Apis mellifera
- Sous espèce : Apis mellifera inter missa (Buttel-Reepen, 1906)

I.4.Morphologie :

Le corps des abeilles est souvent en forme trapue ou élancée, avec une taille qui varie dans la plupart des cas entre 5 à plus de 20 mm (Jacob-Remacle, 1990). Généralement les abeilles sont distinguées des autres insectes par la présence de la pilosité sur le corps, elles sont quelque fois presque dépourvues de poils (abeilles Parasitées) mais elles sont très souvent très poilues ou densément poilues comme chez les faux bourdons. Cette fourrure de poil qui entoure le corps permet aux abeilles une meilleure résistance au froid et c'est aussi un moyen de récolte de pollen. Il est également considéré comme un critère important de différenciation (Bernard, 1951; Terzo et Rasmont, 2007).

Le corps d'abeille est divisé en trois Parties : tête, thorax et abdomen, Il est recouvert d'une membrane externe de chitine (cuticule), qui forme l'exosquelette, cette couche gagne en souplesse Pour permettre les mouvements initiés par les muscles insérés sur la surface interne de la cuticule. (Le Conte, 2004; Biri, 2010).

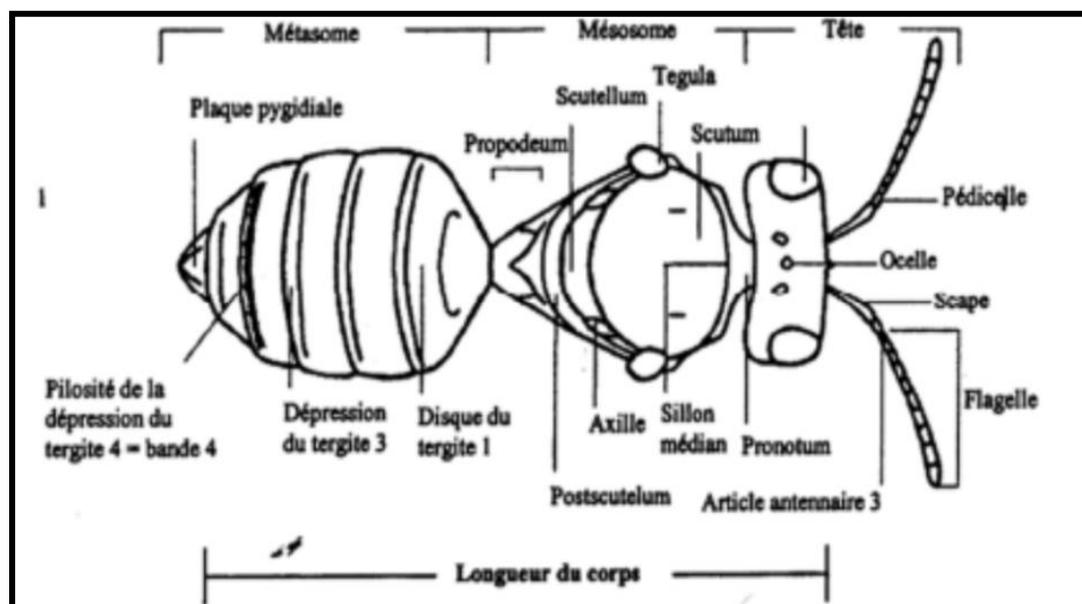


Figure I.1: Structure générale d'une abeille (Mechez *et al.*, 2004)

I.4.1.La tête :

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

I.4.2.L'abdomen :

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

I.4.3.Le thorax :

Le thorax est divisé en 3 segments, dont le 1er s'appelle le propodeum. Chaque segment porte une paire de pattes. Les 2e et 3e segments portent chacun Une paire d'ailes. La fonction principale du thorax est donc locomotrice. En effet, c'est là que se trouvent les principaux muscles du vol et de la marche. Le thorax s'occupe également de fonctions plus spécialisées comme la collecte du pollen. (biri, 2010 ; le conte, 2004).

I.5.Stade de développement :

Les abeilles sont des insectes **holométaboles**, c'est-à-dire à métamorphose complète. Au cours de son développement, l'abeille passe par une série de phases : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago. (Biri,2010)

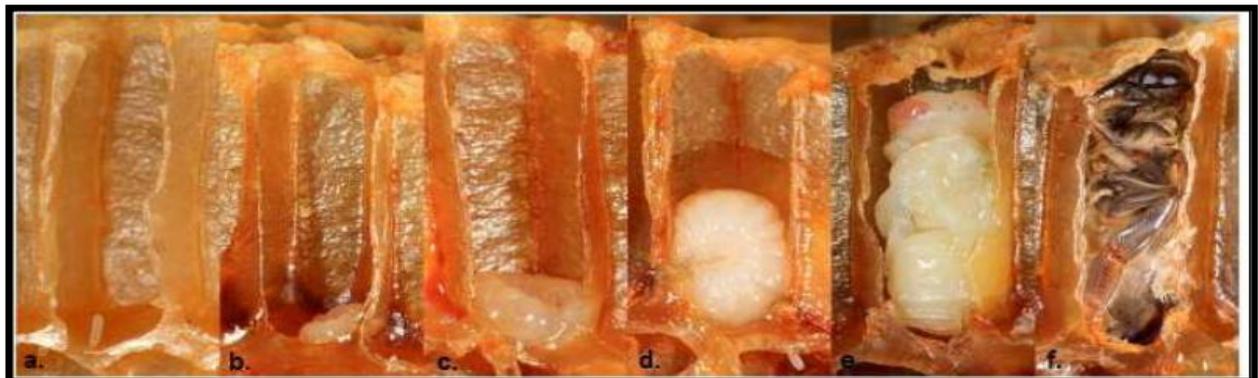


Figure I.2 : De l'œuf à l'abeille adulte (Tourneret, 2013).

a : œuf fraîchement pondu.

b, c, d: développement de la larve.

e : stade nymphal.

f: imago prête à sortir.

I.5.1. L'œuf :

L'œuf de l'abeille est un bâtonnet blanc de 1,5mm de longueur et de 0,3mm de diamètre. Il est collé par son extrémité la plus effilée, au fond de l'alvéole où la reine l'a déposé. (Jean-Prost et Le conte, 2005).



Figure I.3 : œufs (LeConte , 2011)

I.5.2. La larve :

La jeune larve de l'abeille est à peine visible à l'œil nu. plus petite que l'œuf, et couchée au fond de l'alvéole dans une gouttelette de gelée royale, elle ressemble à un minuscule ver, annelé, blanc, à peine incurvé, sans pattes et sans yeux. (Jean-Prost et Le conte, 2005).

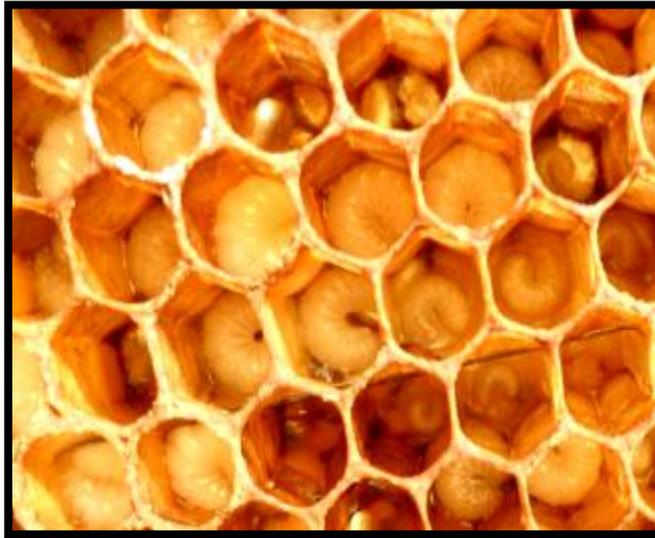


Figure I.4 : larve (Spürgin, 2010)

I.5.3. La nymphe :

Au stade nymphal, la tête, les yeux, les antennes, les pièces buccales, le thorax, les pattes et l'abdomen possèdent les caractéristiques de l'adulte. La cuticule se sclérotise peu à peu et une pigmentation progressive de la cuticule et des yeux est observée, ce qui va permettre d'estimer l'âge de la nymphe. Les nymphes immobiles, ne se nourrissent pas, ne grandissent pas et aucun changement extérieur de forme n'est observé. Les organes internes subissent par contre des remaniements importants (Winston, 1993). Le stade nymphal dure environ 8 à 9 jours pour les ouvrières et les faux-bourçons, 4 à 5 jours pour les Reines. Il est suivi de la dernière mue appelée mue imaginale qui va faire passer la nymphe au stade adulte (Winston, 1993).



Figure I.5 : nymphe (Spürgin, 2010)

I.5.4. L'imago et l'émergence :

Après la mue imaginale, la jeune abeille adulte reste dans l'alvéole durant 10 à 20 heures ; L'imago utilise ses mandibules pour perforer l'opercule de cire qui ferme l'alvéole. Après avoir élargi suffisamment l'entrée de l'alvéole, la jeune abeille évacue sa tête, puis son corps et émerge.

Une fois sur le rayon, l'imago étale ses ailes et antennes, laisse sécher les soies de son corps et commence ses activités. (Sébastien, 2012)

I.6. La colonie d'abeilles :

Organisation sociale d'une colonie

Les abeilles domestiques sont des insectes eu-sociaux, c'est-à-dire qu'un individu seul ne peut pas survivre sans la colonie entière. En effet, trois castes structurent la société des abeilles : la reine, les ouvrières et les faux bourdons (Clément, 2009).

Une colonie d'abeille compte environ 50.000 et 60.000 individus, parfois plus (Paterson, 2008), dont une seule reine, et 0 à 6000 mâles (présents uniquement d'avril à septembre) (Martinet *et al.*, 2001). Toutes ces castes d'abeilles sont nécessaires au bon développement de la colonie (Alberti et Hänel, 1986; Martin *et al.*, 2001).

Le nombre de cette population est variable en fonction de différents facteurs tels que le climat, la sous-espèce des abeilles et la quantité de ponte de la reine, en fonction de la taille et du stade de développement de la colonie (Le Conte, 2011), et aussi selon la saison et selon l'état de santé de colonie (Frères et Guillaume, 2011)

a) La reine :

La reine est l'individu le plus important de la colonie, c'est une femelle issue d'un œuf fertilisé et donc diploïdes, elle est chargée de la reproduction dans la colonie (**Boes, 2010**). Les larves de reines sont exclusivement nourries avec de la gelée royale déposée en grande quantité dans la cellule royale (Rossant, 2011). Les principales tâches de la reine au

cours de sa vie sont la ponte des œufs ainsi que la production de phéromones pour le maintien et le contrôle de la colonie (Winston, 1987).

b) Ouvrière :

Elles sont les plus nombreuses, ce sont des femelles issues d'œufs fertilisés et donc diploïdes (Boes, 2010). Mais élevées dans les cellules les plus petites du Cadre de cire d'un diamètre de 5.2 à 5.8 mm, concentrées à l'intérieur de la colonie (nettoyage des alvéoles, nourrissage des larves, construction des alvéoles,...etc, les abeilles plus âgées se chargent des tâches extérieurs comme la défense de la colonie et la collecte du nectar et du pollen (Winston, 1987). La durée de vie des ouvrières dépend de la saison (Maurizio, 1953).

c) Male :

C'est la troisième caste de la colonie d'abeilles (Biri, 2010) les males apparaissent de manière saisonnière non fécondés (haploïdes), qui ne possèdent qu'une moitié du génome de la reine (Winston, 1987). Son rôle principal est de transmettre le patrimoine génétique de sa mère lors de la fécondation (Seyfarth, 2010). Les faux bourdons ne butinent pas, ne nettoient pas, ne pique pas, ne peuvent pas défendre la ruche contre les envahisseurs (**Cardon-Nomblot, 2016**) ruche en brassant l'air avec leurs ailes (Harrison, 1987).

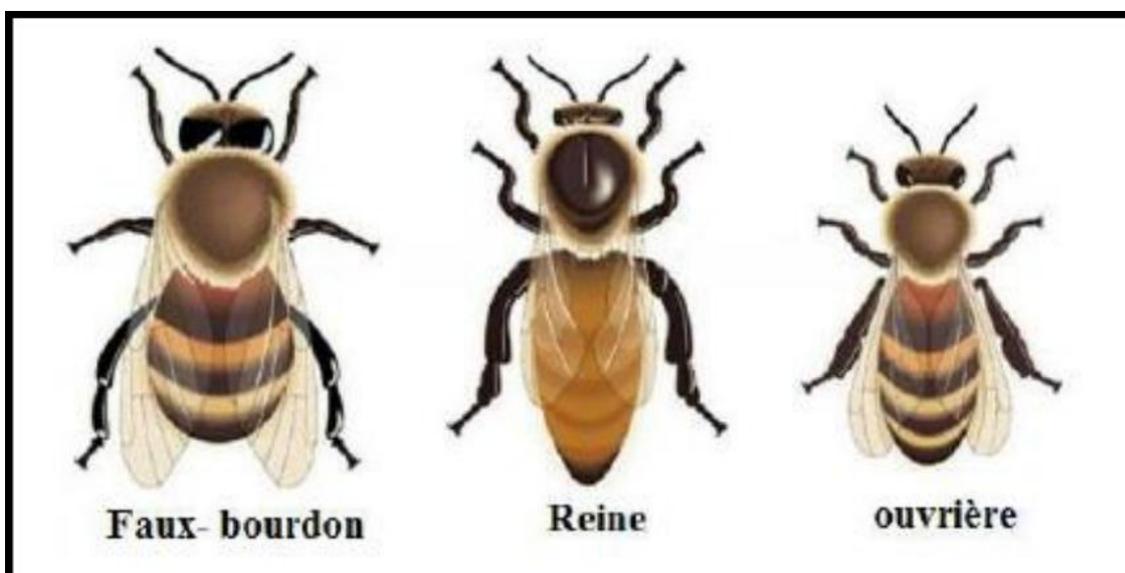


Figure I.6:Schéma des trois castes de l'abeille (Rasolofarivao , 2014).

I.7.Cycles de vie de la reine, des ouvrières et des faux-bourdon :

L'abeille est un insecte holométabole dont le cycle durée 21 jours chez l'ouvrière, 24 jours pour le faux-bourdon et 16 jours chez la reine. Ce cycle est de quatre phases dont la durée diffère selon l'individu. Le stade de l'œuf dure 03 jours chez les trois castes. Le stade larvaire durée 10 jours chez l'ouvrière et le faux bourdon ; 8 jours chez la reine. Le stade pré nymphal durée 2 jours chez La reine et l'ouvrière et 3 jours chez faux-bourdon. Le stade nymphal durée 8 jours chez l'ouvrière, 4 jours chez la reine et 11 jours chez le faux-bourdon. (GILLES, 2010).

Individus Stades	Reine	Ouvrière	Male
Œuf	3jour	3jour	3jour
Larve non operculée	5jour 1/2	6jour	6jour 1/2
Operculation	9 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour	9 ^{ème} jour
Larve operculée et nymphe	7jour 1/2	12	14jour 1/2
Naissance	16 ^{ème} jour	21 ^{ème} jour	24 ^{ème} jour

Tableau I.1 : le temps nécessaire au développement des différentes castes de la ruche (Ravazzi, 2007)

I.8.Situation actuelle de l'apiculture :

I.8.1.Dans le monde :

La situation de L'apiculture diffère d'une région à une autre. D'un pays à un autre et d'un continent à un autre. Cela à cause du climat, de la flore existante et aussi des conditions techniques et organisationnelles dans lequel on pratique l'apiculture. Le nombre d'apiculteurs dans le monde est estimé à 6.6 millions possédant plus de 5 millions de ruches. Le premier producteur du miel dans le monde est l'Asie suivie par l'Europe et de l'Amérique du nord et centrale. Dans le cadre du commerce mondial, la Chine est le premier exportateur mondial du miel avec 93000 tonnes et l'Union Européenne est le premier marché d'importation avec 196000 tonnes. (Badren, 2016).

I.8.2.Dans l'Algérie :

L'Algérie est riche de possibilités apicoles. L'abeille algérienne très proche de l'abeille noire d'Europe, est bien acclimatée aux différents écosystèmes. Elle dispose d'une abondante flore mellifère spontanée et cultivée. A l'exception des régions incultes et désertiques, l'apiculture est largement pratiquée dans les régions montagneuses à population dense, comme les Aurès, la Kabylie, le Dahra: dans les plaines littorales comme celle d'Annaba, de la Mitidja, de Relizane, d'Oran; dans les vallées des grands oueds comme l'oued El Kébir, la Soummam, l'lyser, l'oued El Hammam et la Tafna (Badren, 2016). L'apiculture est donc pratiquée surtout dans les villes Nord du pays où se trouve une flore mellifère pendant presque toute l'année. Dans les zones désertiques de l'Algérie nous avons trouvé des ruches traditionnelles en pierre et en terre glaise. Les ruches modernes utilisées en Algérie sont principalement de type Langstroth aux quelles certaines modifications ont été apportées, liées au climat Très chaud. Nous obtenons de bonnes récoltes de miel des colonies logées dans ces ruches (Badren, 2016). Malgré un potentiel mellifère important et très abondant, la production apicole locale se caractérise par un niveau très faible qui avoisine les 1500 tonnes avec un rendement inférieur à 10 kg par ruche (Skender, 1972).

I.9.les races d'abeilles :

I.9.1.Les principales races dans le monde :

Les races d'abeilles sont très nombreuses, parmi les races géographiques les plus connues, on peut citer :

- **L'abeille noire** : *Apis mellifica mellifica*, qui peuple l'Europe occidentale et septentrional.
- **L'abeille italienne** : *Apis mellifica ligustica*.
- **L'abeille carniolienne** : *Aapis mellifica carnicae*, qui peuple le sud-est de l'Europe mais qui est utilisée maintenant jusqu'en Allemagne.
- **L'abeille caucasienne** : *Apis mellifica caucasica*, originaire du Caucase mais élevée dans beaucoup d'autres pays en raison de ses qualités (Skender, 1972).

I.9.2.Les principales races en l'Algérie :

En Algérie nous rencontrons deux races d'abeilles :

I.9.2.1.Apis mellifera intermissa ou abeille commune :

C'est une petite abeille noire qui a la réputation d'être agressive et très essaime. Elle élève plus de 100 reines à chaque période printanière et parfois automnale.

Pendant les sécheresses plus de 80% des colonies meurent, mais grâce à l'essaimage intensif, le nombre de colonies se rétablit lorsque les conditions redeviennent favorables (Ruttner, 1975).

I.9.2.2.Apis mellifera sahariensis ou encore abeille saharienne :

Elle est très douce, et est manipulée sans fumée. Sa robe est d'un jaune, rouge, semblable à celle de l'abeille d'Asie Mineure; ses premiers anneaux sont jaune-rouge, très larges et bordés d'un trait noir ; le troisième est plus étroit et les deux derniers sont noirs et garnis de poils jaunes. La reine, très longue et grosse, est de couleur jaune rouge allant au rouge-chaudron, avec la pointe de l'abdomen souvent foncée, parfois même noire. Cette reine, très prolifique, règle sa ponte avec beaucoup d'économie; au printemps elle arrive,

grâce à la douceur du temps, à pondre au-delà des possibilités des couveuses. Les abeilles sahariennes vont butiner très loin à plus de 8km de leur ruche (Haccour, 1960)



Figure I.7: La localisation d'*Apis mellifera* en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon , 1994).

CHAPITRE II

II.1.Généralité :

La *varroase* est une maladie parasitaire grave, très contagieuse, qui atteint les abeilles adultes et le couvain; elle est due au développement et à la multiplication d'un acarien parasite externe macroscopique, *Varroa jacobsoni* (Oudemans). Cette parasitose est commune à *Apis cerana* et à *Apis mellifera*.

Apis cerana porte en effet ce parasite, trouvé fortuitement par Jacobson sur l'île de Java. Cependant, cet acarien n'est même pas signalé comme étant pathogène, dans les observations cacologiques (Oudemans, 1904). Plus tard, en 1939, (Toumanof, 1939), spécialiste des maladies des abeilles, mentionne la découverte fortuite de cet acarien par une apicultrice indochinoise, sans lui accorder un intérêt de pathologiste. De même, en Oussouri soviétique, *Varroa* a été signalé une première fois en 1950 sur *Apis cerana*. Les années suivantes, la présence du parasite fut décelée dans toute l'aire géographique d'*Apis cerana* (selon les observations de (Koeniger, 1981), la maladie frapperait seulement les mâles d'*Apis cerana*).

Le passage du parasite sur *Apis mellifera* semble dater des années 1960. Car, dans la région soviétique d'Oussourie, Poltev fit une étude approfondie sur une maladie inhabituelle des abeilles mellifiques mais cet excellent clinicien ne conclut pas à la présence de *Varroa jacobsoni* entre les années 1946 et 1963. Et c'est en 1964 que l'acarien fut découvert sur *Apis mellifera* dans cette même zone. Puis, en moins de dix années, la plupart des ruchers de l'U.R.S.S. furent atteints, du fait de la transhumance et du commerce intérieur. Il est aussi probable que le même phénomène d'adaptation se soit produit dans d'autres régions de brassage des deux espèces d'abeilles. C'est à partir de ces lieux que la parasitose a été rapidement propagée (Coline, 1982).

Par une augmentation des voyages et du commerce international après la seconde guerre mondiale a facilité la dispersion mondiale du varroa (Crane, 1988). Une fois établi, l'acarien se propage sur les essaims, dérivant, volant et abeilles sauvages, et est même signalé sur les guêpes (Gerig, 1988), bien que cela puisse être un artefact de guêpes volant les colonies d'abeilles infectées (Jong *et al.*, 1982)

Chapitre II LA VARROA

Varroa est devenu une préoccupation économique au Japon et en Chine dans les années 1950 et 1960, en Europe à la fin des années 1960 et 1970, et en Israël et en Amérique du Nord.

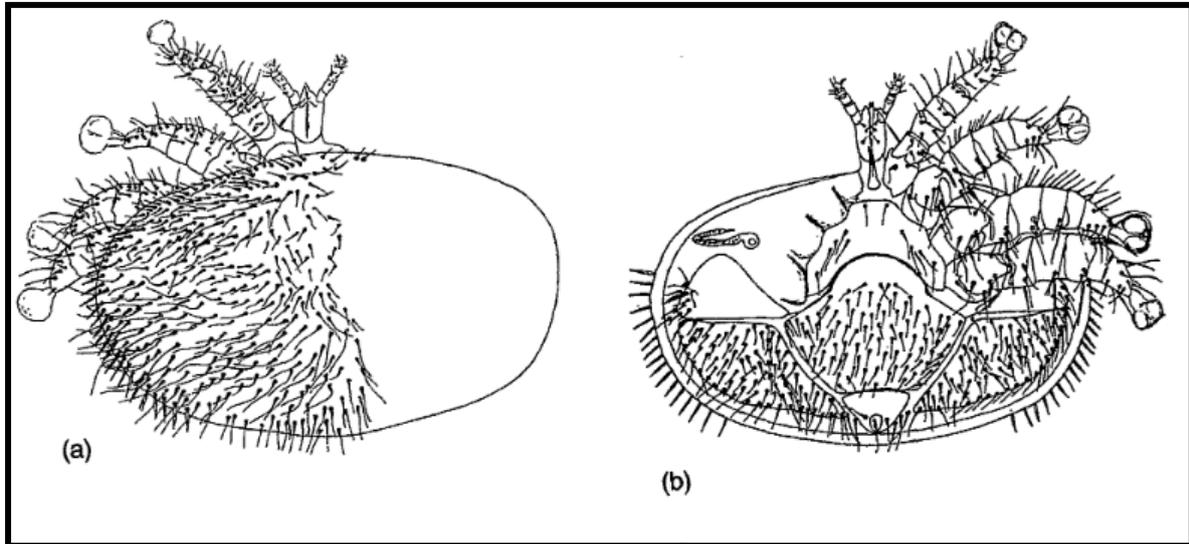


Figure II.1 : *Varroa jacobsoni* a) visage de la femelle adulte. (b) visage de la femelle adulte (Vandame., 1996)

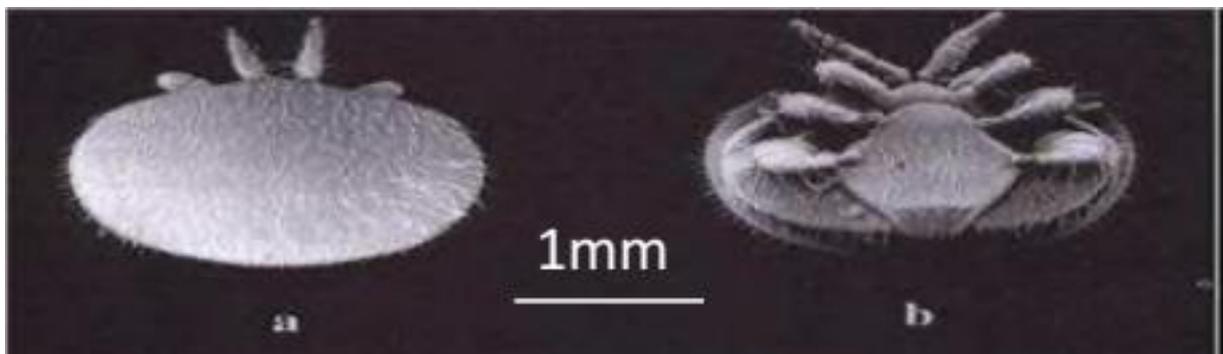


Figure II.2 : Vues ventrales et dorsales de femelles adultes *V. jacobsoni* (Anderson et Trueman, 2000)

II.2. Classification systématique de *V. jacobsoni* :

Selon (Anderson et Trueman, 2000), l'acarien varroa jacobsoni appartient au :

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Classe : Arachnida
- Ordre : Mesostigmata (ou Gamasida)
- Cohorte : Gamasina
- Famille : Varroidae
- Genre : Varroa
- Espèce : jacobsoni

II.3. Morphologie du varroa :

II.3.1. Femelle varroa :

La femelle de *Varroa jacobsoni* mesure environ 1,1 mm de long sur 1,6 mm de large; sa coloration varie du marron clair au marron foncé; sa forme est elliptique avec une légère concavité de la partie supérieure de la carapace; le corps n'a pas la possibilité de se dilater. Elle est donc visible à l'œil nu.

Toutes les parties de son corps sont recouvertes de soies plus ou moins longues ou ondulées.

L'idiosome est constitué de plusieurs plaques cuticulaires. Il porte ventralement quatre paires de pattes courtes et puissantes, chacune terminée par une ventouse. La première paire de pattes porte des sensilles chémoréceptrices.

Le gnathosome se trouve en avant du corps et fait légèrement saillie. Les pédipalpes mobiles recouverts de nombreux poils servent d'organes du toucher. Sous les pédipalpes, l'orifice gnathosomal s'ouvre entre les chélicères qui ont un double rôle sensitif et mécanique dans la perforation de la cuticule de l'abeille. Un pharynx musculéux permet la succion de l'hémolymphe de l'hôte après la piqûre

A l'extrémité postérieure se situe l'orifice anal. Les deux stigmates respi-ratoires sont placés ventralement et antérieurement; ils sont entourés par un pérित्रème muni d'un tube pérित्रémal mobile. L'orifice génital est caché par la plaque ventrale. (Coline, 1982).



Figure II.3 : Femelle de varroa sur l'abeille du stade larvaire (à gauche et à droite) et stade nymphale (au centre). (Colin, 1982).

II.3.2. Le mâle :

Le mâle et les formes immatures de *Varroa jacobsoni* n'existent qu'à l'intérieur du couvain operculé. Le mâle mesure environ 0,8 mm de diamètre. Il est grossièrement sphérique, de couleur blanc-gris ou jaune. Sa carapace est molle.

Son appareil buccal n'est pas adapté à la succion de l'hémolymphe. Les chélicères modifiées permettent le transport des spermatophores.

II.3.3. Les œufs :

De *Varroa jacobsoni* sont blanchâtres, entourés d'une enveloppe contenant le vitellus. Ils mesurent 0,5 mm. La larve enfermée dans la membrane de l'œuf est grossièrement sphérique et mesure 0,5 mm de diamètre. On distingue les trois paires de pattes et les chélicères.

II.3.4. Les protonymphes :

Issues des larves sont mobiles, mesurent 0,7 mm et sont de couleur blanchâtre. Il est très difficile de distinguer mâles et femelles à ce stade.

II.3.5. Les deutonymphes :

Femelles ont à peu près la forme et la taille de l'adulte mais sont de coloration blanche; il en est de même pour les deutonymphes mâles qui ressemblent à l'adulte mais sont plus petits et de forme globuleuse par rapport à la femelle. (coline, 1982)

II.4. Cycle évolutif du varroa vis –vis de celui de l'abeille :

Chez *Apis cerana*, le cycle de reproduction n'est complet que dans les alvéoles du couvain mâle : la femelle de *Varroa jacobsoni* peut être présente dans le couvain d'ouvrières mais alors la ponte n'est pas déclenchée. Au contraire, le couvain de mâles ou d'ouvrières d'*Apis mellifica* permet la reproduction du parasite.

La femelle fécondée se glisse dans l'alvéole juste avant l'operculation; plusieurs acarions sont capables d'infester la même cellule; ainsi, il est fréquent de trouver cinq à dix femelles dans un alvéole de faux-bourdon. La ponte débute après que la larve ait tissé son cocon, c'est-à-dire au stade prénymphal. Chaque femelle dépose de 2 à 8 œufs sur les parois de la cellule (Lucien *et al.*, 2012)..

Le nombre d'œufs pondus dépend partiellement de la saison. Au printemps, la ponte est maximale, puis diminue quand l'activité de la colonie baisse (le couvain mâle n'est plus présent) et s'arrête lorsque les abeilles sont en hivernage. Pendant la mauvaise saison, le couvain est en principe absent, mais il arrive que la gêne causée dans la grappe d'abeilles par la présence du parasite induise une température suffisante pour la ponte de la reine. (Goodman., 2001)

Les œufs de *Varroa* mûrissent isolément et sont pondus de même. L'embryogénèse dure 24 heures. La transformation de la larve en protonympe nécessite 24 heures. Cette phase dure trois jours chez le mâle, cinq jours chez la femelle.

Chapitre II LA VARROA

Le stade deutonymphal persiste un jour ou deux. Finalement, le développement complet du parasite mâle adulte s'étale sur 6 ou 7 jours et celui du parasite femelle sur 8 à 9 jours. L'accouplement a lieu aussi dans la cellule operculée. Le mâle meurt alors. Les parasites adultes sortent de l'alvéole en même temps que la jeune abeille. Un délai de maturation d'au moins cinq jours est nécessaire à la jeune femelle avant de pondre. Une femelle fondatrice de ce parasite ne peut que rarement entreprendre un second cycle de ponte. (coline,1982)

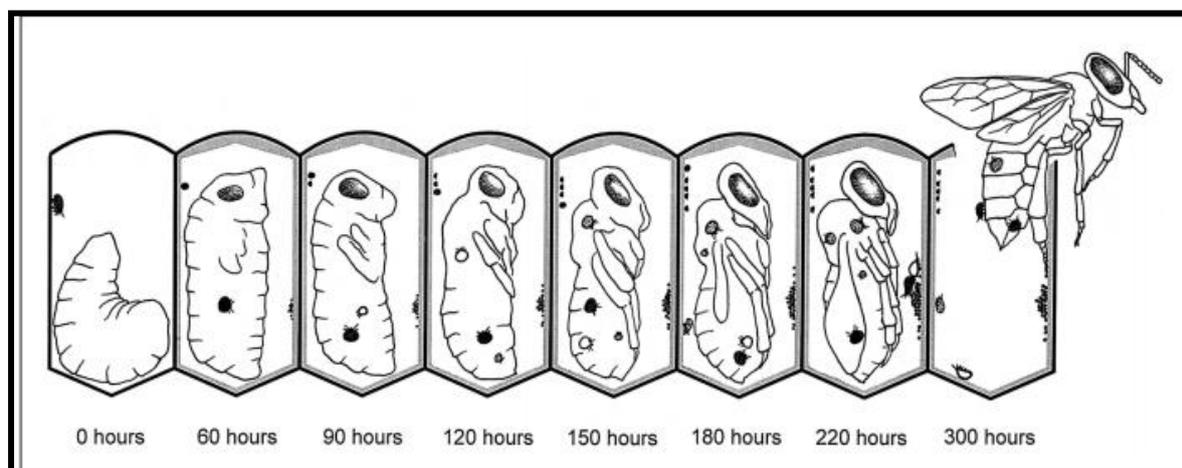


Figure IV.4: Cycle de vie de *Varroa jacobsoni* sur *Apis mellifera* (Martin, 1994)

II.5. Distribution de la maladie :

II.5.1. Dans le monde :

Le *varroa* a été découvert pour la première fois en Indonésie en 1904 et a été observé en 1951 à Singapour (Gunther, 1951), en 1953 en URSS (Breguetova, 1953). Le passage de *Varroa* de son hôte originel *Apis cerana* à son nouvel hôte *Apis mellifera* a sans doute eu lieu au cours des années 1940 ou 1950 (Grobov, 1976). L'importation de colonies d'abeilles de l'espèce *Apis mellifera* en Asie où elles n'étaient pas présentes, dans les années 1930, a donné l'occasion de passer sur cet hôte fraîchement arrivé (Donz., 1995). L'observation a été réalisée en 1958 au Japon et en Chine (Ian Tsin-He, 1965; Topolska., 2001), en 1963 à Hong Kong et aux Philippines (Delfinado, 1963). En 1970, le parasite a été découvert dans des ruchers bulgares. Il s'agit probablement de la première description du parasite sur le continent européen (Grobov, 1976). En France, la première observation

Chapitre II LA VARROA

de colonies d'abeilles infestées par Varroa a été faite en 1982 (Colin *et al*, 1983). En Tunisie, la *varroase* a été découverte en 1976. L'Algérie est déclarée infestée en 1981. En Espagne la maladie a été dépistée pour la première fois en 1985. La *varroase* a été déclarée en Portugal en 1988. Récemment, en 2010, le Varroa a fait son apparition au Madagascar.

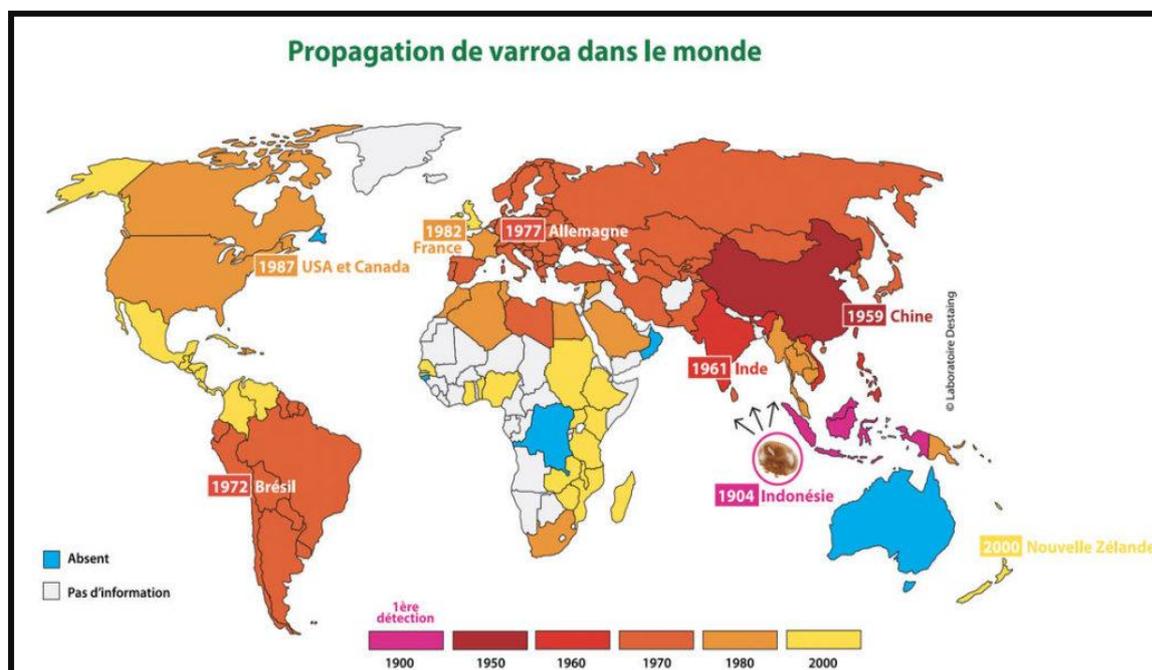


Figure V.5: Répartition géographique actuelle de *Varroa jacobsoni* . (Fernandez, 2002).

II.5.2 En Algérie :

La *varroase* est signalée pour la première fois à l'est du pays, en juin 1981, dans un rucher de la coopérative apicole d'Oum Teboul, près d'El Kala, Est de l'Algérie. Actuellement, ce parasite s'est propagé rapidement dans tout le pays. Elle constituait déjà une menace d'infestation des ruches d'Algérie et la pénétration du *varroa* devenait alors inévitable. En effet, des informations précises et concordantes sur l'extension de la *varroase* sur le territoire. (Blaïde, 2009 ; Robaux, 1986).

II.6. Les symptômes :

De la *varroase* peuvent être confondus avec d'autres troubles, et même avec des pesticides empoisonnements. Voici les symptômes les plus notables:

- Brun rougeâtre pâle ou foncé Les acariens sont visibles sur des pupes autrement blanches.
- Les colonies sont faibles avec une tache le profil des couvées et d'autres symptômes de maladie des couvées sont évidents.
- Adultes défigurés et rabougris les jambes et les ailes déformées se retrouvent en rampant sur les peignes ou sur le sol à l'extérieur (De Jong ; Goncalve, 1999).
- Réduction de la durée de vie de la reine conduit parfois un arrêt de ponte.
- Réduction de la taille et malformation des imagos.
- Réduction du potentiel sexuel des mâles.
- Réduction de la capacité de vol.
- Modification éthologique (perte de sens et de direction).
- Problème de stockage de pollen (apparition de la mosaïque).
- Perte de population.

De plus, on voit des abeilles jeter des larves et des nymphes et là est un malaise général des colonies, avec de multiples symptômes de maladie.

II.7. Les modalités de l'infestation :

La future fondatrice *V. jacobsoni* est transporté par une abeille adulte à proximité (quelques millimètres) d'une alvéole susceptible d'être infestée. Dans certains cas, l'acarien quitte son hôte pour se placer sur le bord de l'alvéole, et se dirige rapidement vers le fond en se mouvant entre la larve et la paroi de l'alvéole (Beetsma *et al*, 1999 ; Boot *et al*, 1992 ; Ibrahim *et al*, 2007 ; Ifantidis, 1988). L'acarien se cache finalement sous la larve d'*Apis mellifera* dans la nourriture destinée à l'alimentation du stade L5 operculé. La respiration du parasite s'effectuerait par l'intermédiaire des péritères, organes respiratoires tubulaires.

II.8. Conséquences de la présence du varroa sur les colonies d'abeilles :

La multiplication du *varroase* fait dans le couvain operculé. Le parasite vit sur l'abeille adulte environ 5 jours afin de parfaire sa maturité sexuelle. Le varroa exerce 3 types d'action :

II.8.1 Action mécanique et irritative :

. L'abeille adulte, ouvrière ou faux-bourdon, subit un ralentissement de son activité si elle porte plusieurs parasites qui occasionnent une surcharge. Dans le couvain, il semble que l'acarien ait une action irritative sur la larve d'abeille, qui se traduit par quelques mouvements désordonnés.

II.8.2. Action spoliatrice :

Le *varroa* se nourrit de l'hémolymphe des abeilles au cours des différents stades de leur développement (larves et abeilles adultes) provoquant ainsi leur affaiblissement. Cette action spoliatrice se caractérise par une baisse du taux de protéines et de corps gras de l'hémolymphe. Il s'ensuit une insuffisance des réserves de l'abeille qui sont utilisées en particulier à la fin de l'hiver pour la sécrétion de la gelée royale nécessaire à l'élevage du premier couvain de la saison. L'action spoliatrice est aussi responsable d'une baisse de l'immunité de l'abeille.

II.8.3. Action vectrice :

Une action vectrice : Lorsque le *varroa* se nourrit sur l'abeille adulte, il peut lui transmettre des virus dont il est vecteur, en particulier le virus de la paralysie aiguë, le virus des ailes déformées et le *Bacillus larvea* (agent de la loque américaine).

Dans les colonies infestées, on observe ainsi une réduction de la taille et de la masse corporelle des abeilles, une réduction de leur longévité et des troubles du comportement (diminution des vols et leur durée). Au total, les colonies sont insuffisamment peuplées et les abeilles affaiblies. L'hivernage est compromis (Apivet, 2009).

Les pertes hivernales de colonies sont habituelles mais elles sont passées de 10 à 15% en moyenne à 30% ces dernières années avec localement des pertes jusqu'à 50 % pendant l'hiver 2007-2008 en région Rhône-Alpes <http://www.rhone-apiculture.fr/Mortalite-hivernale-2008-2009-des.html>.

Le *varroa* n'en est pas le seul responsable, mais les experts pensent qu'il en est un facteur majeur et il est donc important de déparasiter le plus efficacement possible les colonies, tout en préservant la santé des abeilles (Aubert *et al.*, 2008).

II.9. Les méthodes de lutte :

II.9.1.1. Méthode de dépistage simplifiée :

Une première méthode de détection, utilisée conjointement avec la plupart des traitements, consiste à dénombrer les acariens qui tombent au fond de la ruche. On dispose un papier enduit d'un corps gras ou collant à la base de la ruche qu'on remplace tous les deux ou trois jours. Parmi les débris qui se retrouveront sur le papier, on compte les varroas. Pour chaque acarien trouvé mort (sans traitement), on estime de cent à cent cinquante le nombre de vivants dans la ruche. Pendant l'été, moins de dix acariens trouvés en une journée est un seuil acceptable. Lorsque ce seuil est dépassé, on doit traiter la colonie ou utiliser une technique de dépistage plus précise (Péguin, 1989). La plupart des auteurs considère qu'une colonie peut rester saine avec 2 à 3000 acariens.

II.9.1.2. Test à l'acide formique :

Cette technique de dépistage est maintenant approuvée par le gouvernement fédéral dont les inspecteurs n'utilisaient autrefois que des acaricides de synthèse lors du dépistage. Il s'agit d'abord de placer un papier collant recouvert d'un grillage de mailles de 3mm au fond de la ruche. On dispose 20 ml d'acide formique à 65% sur du papier absorbant également au fond de la ruche. Finalement, on compte le nombre d'acariens retrouvé sur le papier après 24 ou 72 heures (Alexandre et Jean, 1995).

II.9.1.3. Décompte sur les abeilles :

Cette méthode très précise, consiste à prendre de 200 à 500 abeilles adultes (un multiple de 100) et de les placer dans un contenant rempli d'alcool ou d'eau bouillante additionnée d'un pourcent de détergent. En brassant pendant 20 minutes, les varroas seront séparés de leurs hôtes et, suivant le comptage, le taux d'infestation pourra être déterminé par une simple règle de trois. Le tableau 1 permet d'évaluer l'importance de l'infestation. Bien que cette technique ne donne pas d'indication directe de l'état du couvain, elle permet néanmoins une estimation fiable de la situation (Alexandre et Jean, 1995).

% d'infestation calculé	Évaluation de la situation
5% ou moins	Infestation peu sévère, on ne voit pas les varroas facilement

Chapitre II LA VARROA

5 à 10%	Infestation sévère. Hivernage difficile et risqué sans traitement
10 à 20%	Les symptômes sont évidents. Si le diagnostic est fait au printemps, la colonie ne passera pas l'hiver
plus de 20%	Il ne reste que quelques semaines de vie à la colonie
plus de 30%	La colonie est une perte totale

Tableau II.1: Importance de l'infestation de varroa selon le % dénombré par le décompte à l'alcool Source: Ritter (1983) cité par Robaux (1986)

II.9.2. La lutte chimique :

II.9.2.1. Les produits :

La thérapie chimique occupe une place de plus en plus importante dans la lutte contre la maladie (varroatose). Beaucoup d'acaricides ont été proposés. Mais Ils ont tous une activité partielle comprise entre 50 et 99% et variable selon les colonies, les climats, les races d'abeilles, l'époque de traitement etc. (tableau II.9).

Nom commercial	Matière active	Mode d'emploi
Amitraz	Triazapentatiene	Pulvérisation, vaporisation, fumigation
Apitol	chlorhydrate decyniazole	Systemique
fobex Va	Bromoprophyllate	Fumigation
Apistan Klartan, Mavrik	Fluvalinate	Systemiques
acide formique	acide formique	Vapeurs
acide lactique	acide lactique	pulvérisation
Perizin	Coumaphos	

Tableau II.2: Principaux acaricides contre la varroase

II.9.2.2. Thermothérapie :

Plusieurs expériences ont été menées sur l'utilisation de la chaleur contre le varroa et l'acarien de l'abeille qui vit dans la trachée, certaines avec un certain succès, d'autres pas. Les acariens sont très sensibles à la chaleur. Avec la thermothérapie, il s'agit donc de trouver la température et la durée de traitement qui vont permettre de réduire le nombre d'acariens sans tuer les abeilles. Ainsi, dans une expérience réalisée par un apiculteur français (Chaudière, 1988), après avoir retiré la reine, on a élevé la température interne de la ruche jusqu'à 60°C par l'énergie solaire et on l'y a maintenue pendant 13 minutes. Le taux de destruction du varroa fut de 50 %, mais un nombre équivalent d'abeilles ont succombé.

II.9.3. Lutte physique :

Cette méthode consiste à chauffer les colonies à plus de 40 °C (jusqu'à 48 °C) pendant plusieurs minutes ou plusieurs heures pour tuer les parasites qui ne résistent pas à de telles températures. (Houle, 2004 et Robaux, 1986).

D'après Stalleger (1988), montré que la chaleur dégagée par la ruche en bouchant toutes les entrées, la température s'élève à 44°C et maintenue pendant pas plus de 20 à 30 minutes, après quoi les abeilles peuvent sortir. Cette température présente des avantages de diminution de la population du varroa surtout dans la période de miellé.

II.9.4. Moyens de lutte biologique :

Il se fait peu de recherches sur le contrôle biologique du varroa, l'utilisation de toxines de Bt (*Bacillus thuringiensis*) et de Virus a été envisagée mais aucune application et de virus a été envisagée mais aucune application pratique n'est prévue à court terme.

II.9.4.1. Application des acides organiques :

Les stratégies de lutte alternative contre Varroa actuellement conseillées combinent des traitements estivaux à l'acide formique ou au thymol avec un traitement automnal dans les colonies exemptes de couvain (Imdorf et coll, 1998). L'acide oxalique est souvent

conseillé. Pour l'instant, l'application de ce produit se fait soit par pulvérisation ou par dégouttement.

II.9.4.2. Acide formique :

L'acide formique est un acide organique que l'on retrouve à l'état naturel dans plusieurs plantes, surtout au niveau des fruits. Il est donc normal qu'on le retrouve dans le miel en faible concentration, typiquement environ 100 mg/kg de miel et même plus pour certains miels comme celui de sapin qui en contient 200 mg/kg. Son usage pour combattre la *varroase* requiert.

II.9.4.3 Acide oxalique et acide lactique :

L'acide oxalique et l'acide lactique ont aussi fait l'objet d'essais contre le varroa. Des chercheurs allemands ont rapporté une bonne efficacité de l'acide lactique à 10-15%, selon les apiculteurs l'ayant utilisé, cet acide serait moins efficace que l'acide formique. Selon Charrière *et al.*, (1997) l'efficacité moyenne de l'acide oxalique a été de 98.3% en 1994 et de 97.4% en 1995. Sur 101 des 112 colonies expérimentales, l'efficacité du traitement a été de plus de 95% (**Hanley et Duval ,1995**).

CHAPITRE III

III.1.Généralités sur les huiles essentielles :

Les huiles essentielles ou essences végétales sont des produits huileux, volatiles, odorants et incolores ou légèrement teintés, obtenus par distillation à la vapeur d'eau, par expression, par incision ou par enflourage du matériel végétal.

Ces essences végétales sont largement distribuées dans le règne végétal et n'existent que chez les végétaux supérieurs. En effet, elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Lamiacées (lavande, basilic, menthe, ...), Les Myrtacées (eucalyptus...), les Lauracées (cannelle et sassafras),... et les Apiacées (coriandre, cumin, fenouil, persil,...).

Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : racines, fruits, graines, fleurs, feuilles, écorces, bois, etc... Elles se forment dans des cellules spécialisées, le plus souvent, regroupées en canaux ou en poches sécréteurs et elles sont ensuite transportées dans les différentes parties de la plante, lors de la croissance de cette dernière. Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se caractérisent par leurs propriétés organoleptiques (odeur, couleur et goût). A la température ambiante, elles sont généralement liquides de densité souvent inférieure à celle de l'eau. Elles sont incolores ou jaune pâle, sauf quelques exceptions comme les H.E de la cannelle (orange), de l'absinthe (vert) et de la camomille (bleu). Leur indice de réfraction est élevé et le plus souvent elles sont douées de pouvoir rotatoire. On leur attribue différents indices chimiques (indice d'acide, d'ester, de carbonyle,...) Elles sont peu insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (éther, alcool, hexane, pentane,...). Elles dissolvent les graisses. L'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels. En outre, elles s'oxydent et se polymérisent facilement. Pour éviter cela, il faut les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

III.2.Définition des huiles essentielles :

Le terme huiles essentielles (HE) dérive de quinta essential, un donné par le médecin suisse paracelsiste aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Khenaka, 2011), Ce sont des substances huileuses, volatiles,

d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes (Belaïch, 1979 ; Valent, 1984 ; Wichtel et Anthon, 1999). Pour Bruneton (1999), Les huiles essentielles (essences=huiles volatiles) sont des produits de compositions généralement assez complexes renfermant des principes Volatiles contenus dans les végétaux plus ou moins modifiés ou cours de la préparation. La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme un Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques (garnero, 1996).

III.3.Répartition, localisation et fonction :

Selon Bruneton (1999), les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis) le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (Belaïche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al.*, 2001).

Pour Guignard *et al.*, (1985), il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires telles que les huiles essentielles dans l'organisme végétal. Par contre pour Garneau (2004), la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe.

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses: poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolysigènes (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées), et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al.* 2001).

Binet et Brunel (1968) signalent que ces canaux et ces poches sont dit schizogénèse s'ils se forment par écartement des cellules sécrétrices et lysigènes s'ils se forment grâce à leur lyse, mais il est fréquent que les deux modes de formation coexistent (canaux et poches schizolyziques). Ghestem *et al.*, (2001) indiquent, que la teneur des plantes en huiles essentielles est faible, souvent Inférieure à 1%. Il existe, cependant, des exceptions telles que le clou de girofle qui renferme plus de 15%.

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai *et al.*, 2003). Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme (Amiot, 2005). ou des sous produits de l'activité métabolique d'une plante (Banthrope *et al.*, 1992 in Amiot, 2005). Cependant, plusieurs effets apparent utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces des plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines par exemple le cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère par *Salvia leucophylla* sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des espèces prairiales ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001; Guignard *et al.*, 2004).

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999 ; Abou Zeid, 2000 ; Guignard, 2000). D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement. Belaiche (1979) signale que l'utilité des

huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

Les essences pourraient constituer des supports à une communication et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de messages biologiques sélectifs (Bruneton, 1999), tandis que Guignard *et al.*, (1985) considèrent l'huile comme une source énergétique : «mis en réserve pendant le jour, ils seraient dégradés durant la nuit en acétyl CoA ».

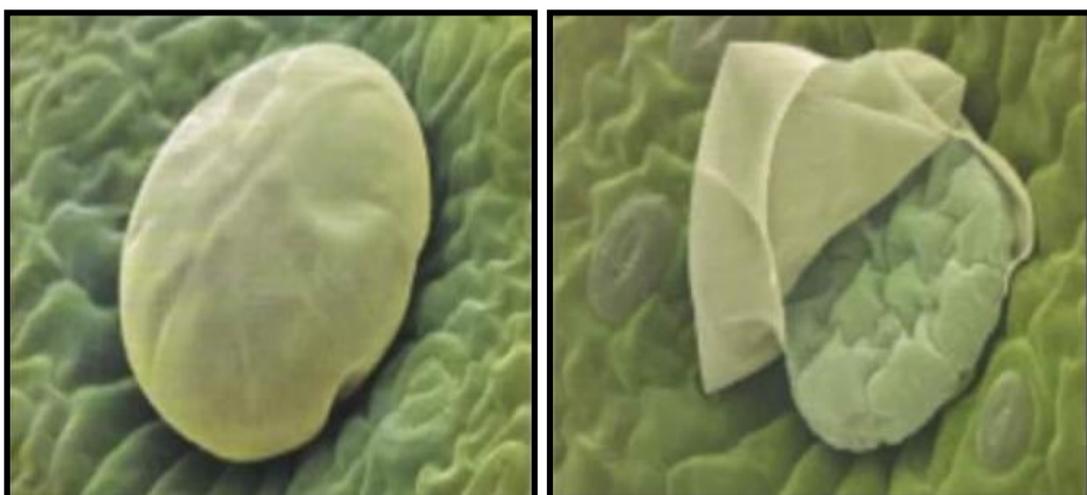


Figure III.1: Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*Origanum vulgare* (Svoboda *et al.*, 2000)

III.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Les propriétés physiques des huiles essentielles leur ont permis d'avoir une place à part dans la palette des ressources du monde végétal. Les huiles essentielles sont des substances généralement liquides, très légères, de densité inférieure à celle de l'eau ($0,750 < d < 0,990$), sauf celle de cannelle et de girofle. Les huiles essentielles sont souvent colorées en jaunes pâle ou incolore à température ambiante à l'exception des huiles essentielles de camomille, romarin qui est de couleur bleue claire. Les huiles essentielles ne rancissent pas et sont solubles dans l'alcool et dans tous les solvants organiques

(chloroforme, éther de pétrole, benzène, etc.) mais sont insolubles dans l'eau. Leur indice de réfraction est généralement élevé (Bernard *et al.*, 1988)

III.5.Composition chimique :

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir (BACIS, 1999). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques), et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Bruneton, 1999).

III.6 .L'utilisation des huiles essentielles :

Les jeunes tiges sont très tendres et non fibreuses ; cuites à la vapeur comme le poireau ou l'oignon primeur, elles sont consommées comme légume. L'huile essentielle sert à parfumer les produits d'entretien, les désodorisants, les lessives, les savons liquides, les déodorants et les gels douche et Dans l'industrie alimentaire, la citronnelle est employée pour aromatiser les pâtisseries et les sucreries ainsi que les limonades C'est également un agent répulsif contre les insectes, notamment les moustique, elle est en outre utilisée pour l'extraction du citral qui sert notamment pour l'hémi synthèse de la vitamine A et d'ionones (Hänsel *et al.*, 1998).

Contre *Varroa jacobsoni*, parasite des colonies d'abeilles, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet toxique de certaines essences et de leur composant (Calderone *et al.*, 1997). Parmi ces derniers, c'est le thymol qui a engendré le meilleur résultat, en addition, il a été démontré que le traitement répétitif en dehors de la période de miellée n'augmente pas les résidus dans le miel et reste sous le seuil de détection gustative qui se situe entre 1,1 et 1,6 mg/kg. Il a été prouvé Jusqu'à présent qu'un seul traitement à base d'huile essentielle ou d'un composé est généralement suffisant pour maintenir la population de l'acarien *Varroa* au dessous du seuil de dégât économique pendant toute la saison (Imdorf *et al.*,1999).Contre les champignons, les alcools et les lactones ses qui terpéniques sont

d'excellents inhibiteurs, ils peuvent émaner de la cannelle, clou de girofle, eucalyptus citronné, géranium, rosat, niaouli, plamarosa, ravensare, tagète, romarin-cinéole et calophyllum. (Wilson *et al.*, 1997) dévoilèrent l'efficacité de 49 huiles essentielles sur *Botrytis cinerea*.

Contre les bactéries (Defoe *et al.*, 2003) avaient étudié la composition chimique de l'huile essentielle *Thymus spinulosus* et réalisé des tests biologiques sur son activité antibactérienne contre des souches de bactérie, les résultats ont montré que les mono terpènes (thymol) a une propriété inhibitrice de croissance Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, (Paris, 1993).

III.7. Conservation des huiles essentielles :

Il est possible de réduire l'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basses température, ou conservés sous atmosphère d'azote. On peut également recourir à l'adjonction d'autres antioxydants (Bruneton, 1993).

III.8. Toxicité des huiles essentielles :

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hyper sensibilisants, photo sensibilisants dus aux furs coumarines, neurotoxiques dus aux cétones, Néphro toxiques dus aux terpènes, majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (Eisenhut, 2007 in Elkolli, 2008).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g/kg : Basilic, Estragon, Hysopé (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg ; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) (Bruneton, 1999).

III.9. Les méthodes des extractions :

III.9.1 La distillation :

Selon Benjilali (2004) la distillation peut être définie comme étant de séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation (cohobation), ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes : la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau.

Bruneton (1999), signale que le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (Anes *et al.*, 1968 in Benjilali, 2004) .

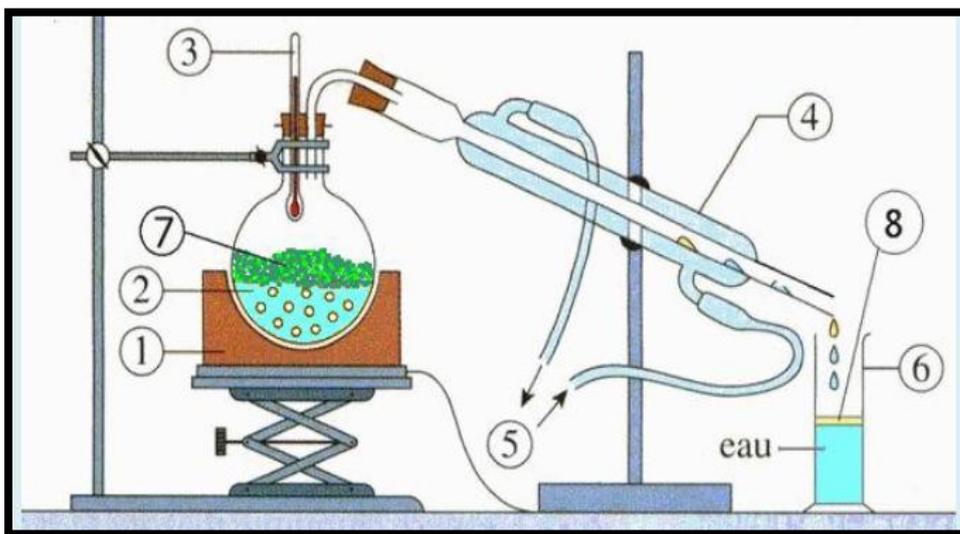
III.9.2. L'hydrodistillation :

Distillation à l'eau ou «hydrodistillation», le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. Selon Bruneton (1999), l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter

(intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle (Abou Zeid, 2000), La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat *et al.*, 1997).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi Les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron (Haekel et Omar, 1993).



FigureIII.2 :Schéma d'un montage d'hydrodistillation(Cazau-Beyret ,2013)

Légende:

(1) Chauffe-ballon; (2) eau en ébullition; (3) thermomètre; (4) réfrigérant eau; (5) arrivée et sortie d'eau; (6) éprouvette graduée; (7) matériel végétal; (8) huile essentiel ou essence.

III.9.3. La distillation à la vapeur :

- a) **Distillation à la vapeur saturée** : «vapo-hydrodistillation» : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (Bego, 2001). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Anes *et al.*, 1968 in Benjilali, 2004; Belaiche, 1979).

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir de plantes fraîches telles que la menthe et le myrte et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles qui sont cueillies puis partiellement coupées ensuite portées au dispositif de distillation. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger (Haeckel et Omar, 1993).

- b) **Distillation à la vapeur directe** : c'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme Force de déplacement de la vapeur, la composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie ; ce procédé est appelé Distillation par hydrodiffusion (Anes *et al.*, 1968 in Benjilali, 2004; Bruneton, 1999). Il découle des recherches de Fathy *et al.*, (1965), Rudolf (1968), de Vernon et Richard (1976) que l'entraînement à la vapeur d'eau est préférable à l'hydrodistillation du fait qu'elle permet une extraction totale des huiles essentielles en améliorant le rendement de 33% par rapport à l'hydrodistillation.

III.9.4 .L'extraction par les solvants volatils :

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» (Belaiche, 1979 ; Duraffourd *et al.*, 1990).

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants), stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts, sécurité de manipulation c'est à dire non toxique ou inflammable. Les solvants les plus utilisés sont les hydrocarbures aliphatiques : l'éther de pétrole et l'hexane, mais aussi le propane ou le butane liquide (sous pression). Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite de plus en plus son utilisation. On a également recours aux solvants halogénés (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) ainsi qu'à l'éthanol. Après l'extraction, le solvant est distillé et en fin de l'opération, le solvant qui imbibe la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (Bruneton, 1999).

L'extraction par les solvants présente toutefois des contraintes diverses liées en premier lieu au manque de sélectivité de ces produits : de nombreuses substances peuvent de ce fait se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, certaines coumarines) et imposer une purification ultérieure, et en second lieu, à la toxicité des solvants et leur présence sous forme de traces résiduelles dans l'extrait final (Bruneton, 1999). En effet, Viaud (1993) affirme que des analyses sérieuses, par les méthodes les plus modernes, montrent que les proportions de solvants résiduels dans les concrètes se situent entre 2 et 4% atteignant souvent 6% et même parfois 25%. Les absolues obtenues par lavage à l'alcool des concrètes contiennent encore des ppm importantes de ces solvants. De telles huiles ne sont donc pas admissibles à l'usage médical par contre, elles sont admissibles en parfumerie.

III.9.5.L'extraction par expression :

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'extractions : dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'huile essentielle (Bruneton, 1999) ; ou Encore après scarifications mécaniques, un entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment (Paris et Hurabielle, 1981).

Cette méthode artisanale est totalement abandonnée au bénéfice des machines utilisées pour permettre l'extraction des jus des fruits d'une part, et d'essence d'autre part (Belaiche, 1979).

III.9.6.L'extraction par micro-ondes :

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé).

On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France Ida, 1996). Ce procédé très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 1999). Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon Scheffer (1996) que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative.

III.9.8.L'extraction par enfleurage :

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin) à 72 heures (Tubéreuse). Les pétales sont éliminées et remplacées par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (Belaiche, 1979 ; France Ida, 1996). Pour certaines plantes, on procède à une immersion des fleurs dans de la graisse chauffée, c'est ce que l'on appelle enfleurage à chaud ou «digestion» (Bruneton, 1999).

Cette méthode appelée également macération à chaud par d'autres auteurs est surtout utilisée pour les fleurs délicates qui perdent leurs arômes très rapidement après la cueillette, comme les violettes et certains lys (France-Ida, 1996). Cette technique laborieuse, qui demande une grande habileté, est de moins en moins employée au profit de l'extraction par les solvants, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite (Abou Zeid, 1988).

CHAPITRE IV

IV.1. Historique :

La culture de l'oranger est très ancienne, elle se confond avec l'histoire de la Chine d'où il est originaire. Au cours du premier millénaire avant notre ère, l'oranger se propage très vite à l'ensemble des pays du Sud-est asiatique, puis arrive en Méditerranée au VIIe siècle.

Les oranges amères, encore appelées bigarades, arrivent en Europe à partir du Xe siècle, époque des croisades. Mais l'orange douce telle que nous la connaissons ne fera son apparition qu'au cours du XVe siècle lorsque des navigateurs portugais la découvrent en Chine. Par sa douceur, elle évince très vite l'orange amère. Une fois implanté dans le bassin méditerranéen, l'oranger est diffusé à travers le monde par les Européens, Amérique du Nord et du Sud au XVIe siècle, Afrique du Sud au XVIIe et Australie au XVIIIe. (Webber et Herbert, 1967).

IV.2. Définition de Washington Navel :

Selon Ghezzaz et Toumi (2008), Washington navel est la variété la plus cultivée et la plus appréciées des Consommateurs, le fruit est relativement gros (200 à 250g), de forme sphérique. Elle est appréciée pour sa précocité aussi car elle se récolte de novembre à février et fait l'objet d'un important commerce d'exportation. (Loussert, 1987).

IV.3. Fiche technique de variété Washington Navel :

Caractéristique :

- **Origine** : Brésil
- **Catégorie** : orange
- **Groupe** : Oranges douces.
- **Sous-groupe** : Navel.
- **Arbre**: vigoureux et très productif
- **Vigueur** : très vigoureux
- **Ecorce** : Orange foncée

Chapitre IV L'ORANGE

- **Forme:** sphérique, un peu allongés
- **Poids :** 200 à 250g
- **Peau :** épaisse et parfumée
- **Pulpe :** croquante, légèrement acide et sans pépin.
- **Calibre:** Moyenne
- **Qualité gustative:** pulpe orange très aromatique, sucrée et sans pépin
- **Floraison :** Fleurs blanches très parfumées.
- **Maturité:** fin novembre- début décembre jusqu'en février.
- **Récolte :** Février jusqu'au mars
- **Utilisation :** Fruit frais, confiture.
- **Evaluation:** ses gros fruits sont très appréciés.
- **Le port de l'arbre :** en pépinière est « retombant »
- **Le pétiole :** est d'environ 20mm muni d'une bractée pas très large, mais apparente.
- à l'aisselle de chaque feuille pousse une épine qui disparaît avec l'âge.



Figure IV.1: Washington navel (Toni Siebert et David Karp, 2010)

IV.4.Description botanique :

L'oranger est un petit arbre sempervirent, pouvant atteindre 10 mètres de haut, avec des branches épineuses et des feuilles de 4 à 10 cm de long. Le fruit Du Citrus sine sis

Chapitre IV L'ORANGE

est appelé orange douce pour le distinguer de l'orange amère, les fleurs Du quel on tire l'essence de néroli et l'eau de fleur d'oranger. Tous les fruits d'agrumes sont considérés comme des baies, parce qu'ils sont charnus, contiennent de nombreuses graines et dérivent d'un ovaire unique.

Aspect	Arbre au port harmonieux et de croissance rapide
Taille	Grande taille en pleine terre (7à8m)
Fleurs	Blanches et immaculées, très parfumées.
Écorce	grise, lisse ou à peine rêche.
Feuilles	Vert profond, légèrement ailées.
Fruits	De forme et de coloration variable en fonction des différents groupes auxquelles ilsappartiennent.

Tableau IV.4: Description botanique des oranges (Bachès, 2011)

CHAPITRE VI

VI.1. Objectif du travail :

- L'objectif de ce travail étudie l'efficacité d'huile essentielle d'oranger *Washington navel* sur le *varroa Jacobsoni* parasite d'*Apis Mellifera Intermissa* et la détermination des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'extrait d'huile essentielle d'oranger.
- Le but est d'obtenir l'huile essentielle de *Washington navel* par la méthode d'hydro distillation , étudier l'effet acaricide de l'huile essentielle d'oranger sur le *Varroa Jacobsoni* parasite d'*Apis Mellifera Intermissa*, par l'estimation de la mortalité provoqué par les doses (0,25%, 0,15%,) et déterminer la dose la plus efficace pour neutraliser ce parasite afin de protéger l'abeille, qui est une des sources économique importante en Algérie , Et faire les analyses physicochimique pour contrôlé la qualité et évaluation l'activité biologique de se huile essentielle.

Notre travail a été effectué au sein du :

- Laboratoire d'amélioration des plantes, département des biotechnologies, Faculté SNV, université de Blida 1.
- Le travail concerne l'extraction ainsi que la détermination de l'activité biologique. Ce travail inscrit dans le cadre d'obtention du Diplôme Master biotechnologie végétale.

VI.2. Etude de l'efficacité d'huile essentielle d'oranger sur *le varroa*

Jacobsoni parasite d'*Apis Mellifera Intermissa* :

VI.2.1. Présentation de la zone d'étude :

VI.2.1.a. Critères de choix du site :

Le rucher, qui a servi à notre étude expérimentale, répond à certains critères de choix à savoir :

- Climat et végétation favorable à une conduite apicole.
- Colonies situées dans un endroit facilement accessible.
- L'infestation des abeilles par le parasite *Varroa Jacobsoni*.

VI.2.1.b. Présentation du site :

Notre étude a été réalisée au niveau du :

Site de la station expérimental du département des biotechnologies, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université Blida I. Le rucher comporte dix ruches installées dans Un verger constitué d'orangers entouré par les arbres d'eucalyptus et de casuarina.

La période d'expérimentation s'étale du 01/03/2020

VI.2.1.c. Les conditions de travail :

Nos essais ont été effectués à 10h du matin, en présence d'ensoleillement, absence des vents, des pluies et de l'abreuvement pour diminuer l'excitation des abeilles et les protéger du changement brusque de l'environnement de la ruche.

VI.2.2. Matériel biologique :

VI.2.2.1. Matériel animal :

VI.2.2.1.a. Les abeilles (l'espèce hôte de l'acarien) :

Nous avons travaillé sur 10 colonies d'abeilles de l'espèce *Apis Mellifera Intermissa*, cette espèce tellienne est caractérisé par une :

- présence de nervosité extrême lors des manipulations.
- tendance extrême à l'essaimage.
- forte vitalité et fécondité Forte accessibilité aux maladies du couvain



Figure VI.1: Présentation de la colonie d'*Apis Mellifera Intermissa*

VI.2.2.1.b. Le parasite :

l'acarien ectoparasite de l'abeille *Apis Mellifera* est le *Varroa Jacobsoni* qui provoque la varroase.



Figure VI.2: Abeille infestée par le varroa



Figure VI.3: le varroa Jacobsoni

I.2.2.2. Matériel végétal :

L'huile essentielle

Une huile essentielle extraite d'oranger .au laboratoire d'amélioration des plantes, département des biotechnologies, Faculté SNV, université de Blida 1. Une quantité de 600 g des écorces de *washington navel* utilisée est achetée au niveau d'une entreprise **Golden feild**.

I.2.3. Matériel non biologique :

I.2.3.1. Matériels apicoles :

a. Les ruches :

10 ruches de type Langsteoth disposées en lignes à côté du verger d'agrumes du département des biotechnologies.



Figure VI.4: Disposition des ruches sur le site.

b. Equipements apicoles :

- **L'enfumeur** : l'utilisation de l'enfumeur sert à produire de la fumée pour réduire l'agressivité des abeilles et appliqué les traitements à base de fumée des plantes choisies.
- **Lève cadre** : sert à décoller les nourrisseurs et les cadres propolisés.
- **La brosse** : pour débarrasser un cadre de toutes les abeilles.
- **Combinaison** : pour éviter les piqûres des abeilles.

c. Matériel utilisé pour le diagnostic :

- **Les langes** : qui sont des plaques de longueur 35cm et de largeur 25 cm, inférieure à celle du plancher de la ruche, utilisé dans pour le piégeage du varroa.
- **La graisse** : elle est nécessaire pour enduire les langes sur lesquels tombent et s'engluent les parasites.

I.2.3.2 Matériel de laboratoire :

- Cocotte-minute ; réfrigérant ; Moteur aquarium qui servi à l'extraction des huiles
- La verrerie qui a servi à la préparation des dilutions
- Résistance
- Fiole graduée et micropipette
- Balance de précision et agitateur.
- Erlenmeyer
- seringues
- Micro tubes Eppendorf
- Para films
- Becher 100 ml
- L'eau
- Tween 80
- Éthanol

I.2.4. Méthode :

I.2.4.1. Méthodes d'extraction :

Hydrodistillation:

L'extraction de l'huile essentielle à partir des écorces de *Washington navel* est effectuée par la méthode d'hydro distillation Les substances odorantes (contenant l'extrait) se vaporisent en se mélangeant avec de la vapeur d'eau. Puis, on condense les vapeurs pour récupérer le distillat constitué d'une phase aqueuse (légèrement parfumée), *l'hydrolat*, et d'une phase organique contenant l'extrait (très parfumé, également appelé *essence* ou *huile essentielle*).

- On ouvre le robinet pour récupérer l'hydrolat dans l'Erlenmeyer et l'huile dans les micros tube.

- A la fin on couvre les micros tubes par le para film et papier aluminium pour éviter l'évaporation d'huile.



Figure VI.5 : Matériel d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle de washington navel.

I.2.4.2. Détermination du rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile recueillie après hydrodistillation sur la quantité de la plante à traiter exprimé en pourcentage.

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R = P_B / P_A \times 100$$

R : rendement de l'huile essentielle en %

PB: quantité de l'huile essentielle en g

PA : quantité de la plante en g

I.2.4.3. Préparation des doses des huiles essentielles :

Les concentrations préparées pour l'huile d'oranger s'est déroulée au niveau du laboratoire de chimie, département de biotechnologie, Faculté des sciences de la vie et de la nature, Université Blida I.

- On a utilisé 5g de tween dans 500 ml d'eau distillée
- mettre la balance en 0 et mettre 5g de tween dans le Becher
- On a Ajouté un peu d'eau distillée et bien agité puis les mettre dans une fiole jaugée de 500 ml
- On a mélangé avec un agitateur en verre et remplir le reste de la fiole avec l'eau distillée
- On a Fermé la fiole et agiter délicatement jusqu' à l'obtention d'une solution homogène

Pour la préparation des dilutions d'huile essentielle, nous avons utilisé un tensioactif (pour solubiliser l'huile essentielle dans l'eau) le Tween 80 .

Les doses d'huile essentielle préparées dans des fioles jaugées sous agitation est comme suit :

- 1 er dose (D1) : préparer une dose de 100ml de solution mère et mélanger avec 0.15g d'huile

Ensuite, nous avons préparées des lanières en papier buvard de 18cm de long et de 5cm de largeur, imprégnées chacune par 1 ml des différentes dilutions (D1)



Figure VI.6 : Préparation des doses des huiles essentielles

I.2.4.4. Présentation des lots expérimentaux :

Dans le protocole adopté, nous avons travaillé sur 2 ruches infestées par *Varroa Jacobsoni*, distribuées en deux lots (D1 : Dilution 0.15%), Chaque lot contient une ruche (Tableau 04)

Lot	Ruches	Type de traitement
D1	R7	Traité par une dose 0,15% d'huile essentielle

Tableau VI.1 : Le protocole expérimental de traitement

I.2.4.5. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie :

Pour recueillir les Varroas morts, nous avons appliqué la méthode de langes graissées mises sur le sol des ruches.

Chapitre VI *Matériel ET Méthode*

Ce choix repose sur un fait :

- Laver les plaques métalliques.
- Sécher avec un papier absorbant.
- Prendre petite quantité de graisse et lui chauffé à la paume des mains.
- Appliquer la graisse dans toute la surface des plaques surtout aux extrémités pour bien coller les bandes de papier filtre.
- Appliquer 1ml de solution de 0,15 % dans chaque bande.
- Ouvrir à l'aide de lève cadre l'entrée de ruche et placer délicatement une plaque dans chaque ruche.
- Laisser les plaques pendant 7 jours (de jeudi au jeudi).
- Compter le nombre de parasites dans chaque plaque après chaque semaine.

La majorité des Varroas qui vont mourir tomberont sur les langes et il sera facile de les dénombrer (ROBAUX., 1986) (Figure VI.7).

Le comptage des Varroas a été réalisé quatre fois par mois, à raison d'une fois par semaine (7 jours) après chaque traitement (Figure VI.7). L'estimation se fait par une simple division de mortalité journalière, cette valeur multipliée par 90 jours (la durée maximale de vie de la femelle varroa en été). Ce qui nous permis d'obtenir le nombre approximatif de varroa existant dans la colonie (ROBAUX, 1986).



Figure VI.7 : Méthode d'utilisation des langes et du comptage du *Varroa*.

CONCLUSION

Depuis longtemps, la lutte contre la varroise est basée sur l'utilisation des acaricides de synthèse. L'usage de ces molécules chimiques a causé des problèmes tel que les résidus de ces substances dans le miel et la cire, le blocage de la ponte et l'accroissement de la résistance du parasite.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'effet biologique de l'oranger Washington navel. Afin de les valoriser en lutte biologique.

En raison de la pandémie Corona, nous n'avons pas été en mesure de continuer à appliquer le traitement à base d'huile essentielle d'orange navel de Washington au parasite de l'abeille Varroa.

Références bibliographiques

1. **Adam G., 2010** : La Biologie De L'abeille. Cours Ecole D'apiculture Sud Luxembourg. 26p.
2. **Alberti G et Hänel H., 1986**: Fine structure of the genital system in the bee parasite *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitating. *Expérimental ET applied acarology*. vol. 2.63–104p
3. **Alexandre H et Jean D.,1995** : LA VARROASE(1)DES ABEILLES.Pp 370 -08
4. **Amiot J. (2005)** .Thymuse vulgaris , un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologieévolutive des composés secondaire. Thèse-doctorat-Ecole Nationale supérieure d'agronomie deMontpellier. France .
5. **Anderson D.I; Trueman Jwh., 2000**: *Varroa jacobsoni* (acari: varroidae) is more than one species. *exp. appl. acarol*.Pp 24. 165-189p
5. **Apivet. EU., 2009** : Les effets pathogènes de *Varroa destructor* sur l'abeille et la colonie d'abeilles
6. **Aubert M ; Faucon J.P ; Chauzat M.P., 2008** : Enquête multifactorielle: influence des agents microbiens et parasitaires, et des résidus d pesticides sur le devenir des colonies d'abeilles domestiques en milieu naturel. **Rapport, AFSSA.**
7. **Ayad R et Aoudia N. ,1998** : Efficacité thérapeutique de quelques plantes a propriété acaricidevis-à-vis de varroase : *varroa jacobsoni* .thés.ing.Agron.INA el harrach ;83p.
8. **Bâches. B.,2012 ;Anonyme, (2007)**.cité par Ghazzaz .R et Toumi.H-étude de comportement devariétéWashington navel, 22 p 'Thèse' 2007-2008
- 9.**Badren M.A., 2016** : La situation de l'apiculture en Algérie et les perspectives de développement.26p
- 10.**Bernarde F., 1951** : Super famille des apoidea ou abeilles in grassé p. p., traité de zoologie, insectes supérieurs et hémiptéroïdes. Ed. masson et cie, Paris, T. X, Facs., (2) : 976-1948.
- 11.**Bernarde T ; Perinau F ;Brav O ;Delmas M ;Gaset A., 1998** :Extraction des huiles essentielles .Chimie et technologie :Information chimie,298 ,p179-184
- 12.**Belaiche P. (1979)** .Traité de phytothérapie et d'armathérapie Tome : l'aromatogramme. Éd .Maloine . Paris.
- 13.**Bruneton J.,1993** : Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales . Paris .lavoisier.623p (Technique et documentation).
- 14.**Bruneton J . (1999)**. Pharamacognosime phytochimie , plante médicinales. 3eme édition, Ed. TEC et doc . Paris .

- 15.Bruneau.E ; Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B.** Le traité rustica de l'apiculture. Ed. Rustica. Paris. Pp.527. 12-83p
- 16.Binet P et Brunel J. P(1968).** Physiologie végétal. Ed. Doin,Paris, pp . 774-782
- 17.Biri , M., 2002 :** Le Grand livre des abeilles cours d'apiculture moderne. Ed. De Vecchi Paris.pp.260
- 18.Biri M., 2010 :** Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Edition de Vecchi, Paris, 13-101. 302.
- 19.Boot, W.J. et al.,1995 :** Does time spent on adult bees affect reproductive success of *Varroa* mites? *Entomol. Exp. Appl.* 75, 1–7
- 20.Boes K. E., 2010 :** Honeybee colony drone production and maintenance in accordance with environmental factors: interplay of queen and worker decisions. *Insecte sociaux*, 57(1): 1-9
- 21. Boucher C., 2009 :** Bilan de la mortalité hivernale 2008-2009 au sein des colonies d'abeilles. . [http:// www.agrireseau.qc.ca/apiculture/documents/Enquete_mortalite_92009_Bilan.pdf](http://www.agrireseau.qc.ca/apiculture/documents/Enquete_mortalite_92009_Bilan.pdf)
- 22. Buttel-Reepen H. V., 1906:** Apistica Beiträge Zur Systematik. Biologie Sowiezur geschichtlichen und geographischen verbeitrung du Honigbiene (*Apis mellifera*. L) ihare varietaten und übrigen. Apis- Arten., Berlin
- 23. Chaudière, M. 1988 :** L'énergie solaire contre la varroase, Les Quatre Saisons du Jardinage, n50:58-60
- 24.Clément H., 2009 :**L'abeille sentinelle de l'environnement. Paris. Alternatives .144 p.
- 25.Clément H., 2010:** Une Ruche Au Jardin. Ed. Rustica. Paris.Pp.79.20-29p.
- 26.Colin E., 1982 :** sci. tech. Off. int. Epiz. 1 (4),pp. 1177-1189
- 27.Colin E et al. 1983 :** Etude du premier foyer français de Varroatoxose de l'abeille .bull .acad.vet.Den France 56 :p89-93
- 28.Crane E., 1988:** Africanized bee, andmites parasitic on bees, in relation toworld beekeeping. See Ref. 1, pp. 1–9
- 29.Crane E., 1990 :** Bees and keeping, science practice and world ressources, heineman, London. P: 614.ISBN 0-8014-2429-1
- 30.Crane E., 1988:** Africanized bee, andmites parasitic on bees, in relation toworld beekeeping. See Ref. 1, pp. 1–9
- 31.De Jong D; Morse RA; Eickwort GC., 1982:** Mite pests of honey bees.Annu.Rev. Entomol.Pp27.229–52p.
- 32.De Jong D, Goncalves LS. 1999.** The Africanized bees of Brazil have become tolerant of varroa. See Ref. 6, p. 131

- 33.Dietz A., 1992: Honey bees of the world.** The hive and the honeybee, Illinois. Pp.10. 23-71p
- 34.Donze G et Guerin P.M., 1994:** Behavioral attributes and parental care of *Varroa* mites parasitizing honeybee brood ,*Behav. Ecol. Sociobiol.*Pp 34. 305–319p.
- 35.Donze, G. et al.,1996:** Effect of mating frequency and brood cellin festation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*, *Ecol. Entomol.* pp. 21, 17–26
- 36.Fernandez N., Coineau Y. 2002 :** Varroa, tueurs d'abeilles. Bien le connaître, pour mieux le combattre.Edition Atlantica, Biarritz, France.Pp 237.
- 37.Fries I et Rosenkranz P.,1996:** Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies, *Exp. Appl. Acarol.*Pp 20. 103–112p.
- 38.Frérés JM; Guillume JC., 2011 :** L'apiculture écologique de A à Z. nouvelle Ed. marco pietteur.Pp816.119-142p
- 39.Garneau F .X (2004).**Le matériel végétale et les huiles essentielles :Manuel pratique . huilesessentiellles : de commercialisation 1-16p .
- 40.GerigL., 1988 :** Wespen als Varroatrager-innen.Allg. Dtsch. Imkerztg.(ADIZ)22:274–77 (In German)
- 41.Ghesteme A ; Seguin E ;Paris M et Orcchioni .** Dossier2, -Botanique, pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie, Homoéopathie . Ed. TEC. Et Doc. Paris.
- 42.Guignarde J . I.,Cossen I et H enry M . (1985) .**Abrégé de phytochimie . Ed .Masson Paris, pp . 155 -174
- 43.Guignarde J I (2000) .**Biochimie végétale 2 eme Ed. De l'abrégé Dunod ; Paris, PP . 177-185.
- 44.Guignard J . Dupontf .(2004).**Botanique –Systèmeutique moliculaire-Ed . Masson .13eme édition .
- 45.Gustin Y.,2008 :** L'apiculture Illustrée. Eds. Rustica. Fler. Paris. Pp223.
- 46.Hanley Alexandre et Duval Jean., 1995 :** La varroase des abeilles.*Agro-bio* .pp 370 – 08.
- 47.Haccour P., 1960 :** Recherche sur la race d'abeille saharienne au Maroc. Comptes Rendus, Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc Pp6. 96-98p.
- 48.Harbadji. M, Naoui. A., 1996 :** Etude de l'efficacité thérapeutique de quelques plantes acaricides vis-à-vis de la Varroase .Thèse ing.Agro.INA EL HARRACH .93P
- 49.Imdorf A., coll.J., 1998:** Alternative Varroa control. *Am. Bee J.*, 136, pp189-193.
- 50.Jacob-Remacle A. (1990).** Abeilles sauvages et pollinisation. Faculté Des Sciences Agronomiques de Gembloux. 39p

51. Jean-Prost P et le conte Y., 2005 : Apiculture Connaitre l'abeille conduire le rucher. lavoisier tec&doc Paris. 698p

52. Koeniger N., Koeniger G. et w Ijayagunasekara. (1981). Beobachtungen über die Anpassung von *Varroa jacobsoni* an ihren natürlichen Wirt *Apis cerana* in Sri Lanka. *Apidologie*, 12 (1), 37-40

53. Lagunez-Rivera L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse

54. Lobreau-Callen D et Damblon F., 1994 : Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) et Zones de Végétations en Afrique Occidental Tropicale et Méditerranéenne. Grana. vol. Pp33. 245-253p

55. Loussert., 1987 cité par Ghazzaz. R et Toumi. H. Etude de comportement de la variété Washington navel. Thèse (2007-2008)

56. Le Conte Y., 2004 : Le Vol Chez L'abeille « *Apis mellifera* ». Abeilles et Fleurs, (648) :20-21.

57. Le Conte Y., 2011 : Mieux connaitre l'abeille. la vie sociale de la colonie.

58. Maurizio A. (1953). Weitere Untersuchungen a pollen hoschen. Beiheft zuschweiz. Bieneztg. 2(20) 486-556p.

59. Martin, S.J. (1994) Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud .in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions, *Exp. Appl. Acarol.* Pp18. 87–100p

60. Martin, S.J. (1995) Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud.in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions, *Exp. Appl. Acarol.* Pp19. 199–210p

61. Martin, S.J. and Kemp, D. (1997) Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies, *J. Apicult. Res.* Pp 36. 113–123p

62. Martin C; Salvy M; Provost E; Bagnères AG; Roux M; Crauser D; Clément JL; Le Conte Y., 2001: Variations in chemical mimicry by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* according to the developmental stage of the host honey-bee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. vol. 31p

63. Michez M., Terzo M. et Rasmont P. (2004). Révision des espèces ou est paléarctiques du genre *dasyptode* Latreille 1802 (hymenoptera, apoidea, melittidae). *linzer biologische beitraege*. 36(2):847-900

64. Oudemans Ac. (1904). On a new genus and species of parasitic acari notes from *leyden museum*, 24, 216-22.

65. Paterson PD., 2008: L'apiculture. Ed. Quae CTA .163p

66. Peguin. P., 1988 : L'apiculture biologique face au varroa .nature et progrès Pp123 .27-28p

- 67.Porter N. (2001).**Essentiale oils and their production. Crop and Food Research. 39 p.
- 68.Rademacher. E., 1983.** [Versuechez Bckämpfunder verroato scmiy Naturs loffem].*Apidologie*, 14(4), pp:265-266.
- 69.Rai M.k.Acharya D et weadegaonkar P . (2003),**plant derived –antimycotices: potential of Asteraceouc plants, In: plant-Derived antimycotics :Current Trends and Future Prospects ,Haworth press, N-York, Londin ,Oxford .165 -185p.
- 70.Rasolofoarivao H., 2014 :***Apis mellifera unicolor* (Latreille, 1804, Hymenoptera:Apidae)et *Varrroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000, Acari : Varroidae) à Madagascar : diversité génétique, impact et comportement hygiénique. Thèse doctorat en Sciences.144p
- 71.Robaux. P., 1986 :**Varroase et Varroatose .Edition Opida,Pp282.
- 72.Rossent, A.(2011).** Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat .Université de Limoges.
- 73.Ruttner F., 1975 :** African races of honey bees.Proceedings XXV International Apiculture Congress, Grenoble Pp 325-344.
- 74.Savobda K. P et Hampson J.B(1999).**Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatique plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars>
- 75.Seyfarth W.(2010).**L'élevage de faux bourdon .24p
- 76.Skender K., 1972 :** Situation actuelle de l'Apiculteur Algérienne et ses possibilités de développement – Centre national pédagogique agricole .86 p.
- 77.Spürgin A., 2010 :** Guide de l'abeille. Ed. Delachaux et Niestlé. Paris. PP.125. 29-58p
- 78.Stalleger, P. 1988 :** Apiculture: Énergie solaire et varroase. Les Quatre Saisons du Jardinage, 5
- 79.Terzo M et Rasmont P. (2007).** Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs. Les livrets de l'agriculture N° 14. Ministère de la région Wallonne direction générale de l'agriculture.61p.
- 80.Tourneret E., 2013.**(Page consultée le 06 mars 2020). Stock photos [en ligne]. Adresse URL: <http://www.thehoneygatherers.com/html/phototheque1.html>
- 81.Webber et Herbert. (1967).**Histoire des agrumes en europe <http://uses.plantnet-projet.org/fr/>
- 82.Winston M.L.(1987).**The Biology of the Honey Bee. Campbridge, Massachusetts: Harvard University Press
- 83.Winston M.L., 1993 :** La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par Lambermont. <http://www.rhone-apiculture.fr/Mortalite-hivernale-2008-2009-des.html>

