

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Saad Dahleb de Blida 1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des Biotechnologies



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER Académique en Biotechnologie  
Option : biotechnologie végétale et amélioration des plantes

## Thème

**Activité biologique de l'huile essentielle de citronnier (*Citrus Lemon*) sur le *Varroa Jacobsoni* le parasite de l'abeille (*Apis Mellifera*)**

Soutenu le : 06/07/2020 à 12H

Présenté par :

OUSSAID MERIEM

BOUGHEDAOU SANA

Devant le jury composé de :

Mme Chaouia C	professeur, Blida 1	présidente
Mr Bendali A	professeur, Blida 1	Examineur
Mme Kebour D	professeur, Blida 1	Promotrice
Mme Mekademi k	professeur, Blida 1	Co-promotrice

Année Universitaire 2019/2020



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Saad Dahleb de Blida 1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des Biotechnologies



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER Académique en Biotechnologie  
Option : biotechnologie végétale et amélioration des plantes

## Thème

**Activité biologique de l'huile essentielle de citronnier (*Citrus Lemon*) sur le *Varroa Jacobsoni* le parasite de l'abeille (*Apis Mellifera*)**

Soutenu le : 06/07/2020 à 12H

Présenté par :

OUSSAID MERIEM

BOUGHEDAOU SANA

Devant le jury composé de :

Mme Chaouia C

professeur, Blida 1

présidente

Mr Bendali A

professeur, Blida 1

Examinateur

Mme Kebour DJ

professeur, Blida 1

Promotrice

Mme Mekademi k

professeur, Blida 1

Co-promotrice

Année Universitaire 2019/2020

## **Remerciements**

*Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu **Allah**, notre créateur le plus puissant de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage, ainsi de nous avoir guidé vers le chemin de savoir afin d'accomplir*

*Ce travail modeste.*

*Nous profonds remerciements à notre promotrice **D. Enseignante**, chercheuse **Pr Kebour D** et **Mme Mekademi K** pour ses encouragements,*

*Ses conseils, son aide tout au long de ce travail.*

*Nous tenons également à remercier les membres de jury*

*Pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de*

*Siéger à notre soutenance, tout particulièrement :*

***Mr Bendali A**, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.*

***Mme Chaouia C**, qui nous a honorées en acceptant d'être présidente de jury.*

*Nos sincères remerciements s'adressent au **CHEF d'option Mr Zouaoui** et à tout le personnel du laboratoire d'amélioration des plantes et à **Mr Youcef Ghribi** pour ses efforts, ses conseils, son aide et pour son encouragement*

*Nos remerciements vont également à tous les personnes qui*

*Ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# Dédicace

*À mon très cher PAPA*

*À ma très chère maman*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*À mes très chères sœurs ASMA ET ZINEB*

*“Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Aucun signe ne pourra décrire votre implication dans mon épanouissement.*

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde”.*

*À mes très chères grands-parents, À l'âme de TITIS*

*Qui m'a accompagné par ses prières, ses Douaas et sa douceur, reby yerahmek o yeja3lek men ahl al Jenna*

*À mes chères copines CHAHINEZ ET IBTISSEME*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*À ma chère binôme SANA*

*Je vous souhaite tous le bonheur et joie qui existe au monde*

*À tous les membres de la famille Oussaid et laib, petits et grands, surtout à mon cousin Samir et ma cousine Ait Saadi Nacera*

*À tous mes amies et la promotion 2019/2020.*

*Meriem*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de mes grands-parents bien aimés et de tous mes chers que j'ai perdu,*

*A mes très chers parents*

*Qui m'ont guidé Durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et m'a soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.*

*A mon cher frère Younes,*

*A toute ma famille sans exception et surtout à ma grande mère Nadia,  
J'adresse aussi mes dédicaces à mes adorables amies Tina, Olga, Sarah et Irina pour leur soutien moral et leur encouragement indéfectible,*

*A mon cher binôme Meriem, Je te souhaite plein de courage et de réussite dans ta vie,*

*Spéciale dédicace à madame Nadia Abdellatif,*

*À tous mes collègues de la promotion de Biotechnologie végétale 2019-2020 et tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce modeste travail ;*

*Enfin à toute personne que j'aime et j'estime que le dieu vous protège.*

*Sana*

## Résumé

Le présent travail concerne l'application d'un traitement à base d'huile essentielle de citron (*Citrus Lemon*) sur le *Varroa Jacobsoni*, principal ennemi de l'abeille tellienne (*Apis mellifera* Intermissa), Pour remédier à ce problème qui affecte notre apiculture et augmenter par la suite le rendement en produits apicoles.

Les résultats du traitement anti acarien a révélé une forte activité acaricide de l'huile essentielle *de citrus lemon*. Sur le *Varroa jacobsoni* parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* dans la première semaine

**Mots clés :** huile essentielle, *Citrus lemon*, *Varroa Jacobsoni*, apiculture, *Apis mellifera*

## Abstract

### Pre-treatment results

The present work concerns the application of a treatment based on lemon essential oil (*Citrus Lemon*) on the *Varroa Jacobsoni*, main enemy of the tell bee (*Apis mellifera* Intermissa), To remedy this problem which affects our beekeeping and subsequently increase the yield of beekeeping products. The results of the anti-mite treatment revealed a strong acaricidal activity of the essential oil of *Citrus Lemon*. On the *Varroa jacobsoni* parasite of the honeybee *Apis mellifera*.

**Keywords:** essential oil, *Citrus lemon*, *Varroa Jacobsoni*, beekeeping, *Apis mellifera*

### ملخص

#### نتائج ما قبل العلاج

يتعلق هذا العمل بتطبيق علاج قائم على زيت الليمون الأساسي على فروا جاكبسون ، العدو الرئيسي للنحلة ابيس ميليفرا ، لعلاج هذه المشكلة التي تؤثر على قطاع تربية النحل لدينا وبالتالي زيادة محصول المنتجات من تربية النحل. كشفت نتائج العلاج المضاد للسوس عن نشاط مبيد للجراثيم من الزيت الأساسي الليمون. على طفيل فروا على نحل العسل

**الكلمات الرئيسية** ابيس ميليفرا، فروا جاكبسون، تربية النحل.

## Listes des tableaux

Tableau 01 : Systématique du <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	34
Tableau 02 : systématique du citron .....	48
Tableau 03 : Principaux constituants chimiques de citron.....	48
Tableau 04 : Evaluation de la mortalité de varroas de la ruche 3....	66
Tableau 05 : Evaluation de la mortalité de varroas de la ruche 4 traitée par l'huile de citron à la concentration 0.25% .....	67

## Listes des figures

Figure 01 : Abeille.....	22
Figure 02 : Anatomie externe de l'abeille.....	23
Figure 03 : Anatomie interne de l'abeille.....	24
Figure 04 : les castes d'une colonie d'abeille .....	25
Figure 05 : le cycle de développement d'abeilles.....	29
Figure 06 : Répartition du <i>Varroa</i> dans le monde.....	33
Figure 07 : vue microscopique de <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	34
Figure 08 : Vue ventrale d'une femelle adulte <i>V. Jacobsoni</i> .....	35
Figure 09 : Composition normale d'une famille <i>V. Jacobsoni</i> .....	37
Figure 10 : Cycle évolutif du <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	38
Figure 11 : Abeille saine (à gauche) et abeille parasitée (à droite) ...	40
Figure 12 : Des abeilles mortes avec des ailes déformées.....	40
Figure 13 : Couvain d'ouvrières parasité par <i>V. Jacobsoni</i> .....	41

Figure 14 : feuilles, inflorescences et fruits de citron .....	47
Figure 15 : Caractéristiques morphologiques d'un Citrus.....	47
Figure 16 : schéma d'un Clevenger (hydrodistillation).....	53
Figure 17 : Méthode d'Antibiogramme.....	57
Figure 18 : Méthode de la détermination des CMI en milieu liquide .....	58
Figure 19 : le site de travail (station expérimentale) .....	59
Figure 20 : citron jaune .....	60
Figure 21 : présentation de la colonie d' <i>Apis mellifera</i> .....	60
Figure 22 : abeille infestées par le Varroa.....	61
Figure 23 : Disposition de rucher .....	61
Figure 24 : les écorces de citron .....	62
Figure 25 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger .....	63
Figure 26 : lange de traitement placé en dessous d'un plancher grillagé .....	64
Figure n° 27 : graphe représente le taux de la mortalité des Varroas dans le rucher 4 .....	67

## Listes des abréviations

**FAO**: Organisation des Nations-Unis pour l'Alimentation et l'Agriculture

**MADRP** : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**CG /SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**CMB** : Concentration minimale bactéricide

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**HE** : Huile essentielle

**J.C** : Jésus Christ

**MADR** : Ministre de l'agriculture et de développement rural Algérien.

**Mv**: Masse de la matière végétale

**MHE**: Masse de l'huile essentielle

**Nm**: Nanomètre.

**RHE**: Rendement de l'huile essentielle

**TBHQ** : 2-Tertiobutyl-4-hydroxyphénol

**UFC** : Unité formant colonie

**UV**: Ultraviolet

**ABPV**: Acute Bee Paralysis Virus

**BQCV**: Black Queen Cell Virus

**CBPV**: Chronic Bee Paralysis Virus

**CWV**: Cloudy Wing Virus

**DWV** : Deformed Wing Virus

# Tables des matières

Liste des tableaux

Listes des figures

Listes d'abréviations

**Introduction** .....20

## **Partie théorique : Synthèse bibliographique**

### **I- La vie de l'abeille (*Apis mellifera*)**

I-1/Historique.....22

I-2/Abeilles Algériennes.....22

I-2-1/ Races autochtones.....22

I-2-2/Races introduites.....23

I-3/ Anatomie générale d'*Apis mellifera*.....23

I-3-1/Morphologie externe.....23

I-3-1.1/La tête .....23

I-3-1.2/ Le thorax (mésosome).....24

I-3-1.3/ L'abdomen (métasome).....24

I-3-2/Morphologie interne.....24

I.2.1/Le Système circulatoire .....24

I-3-2-2/Le Système nerveux .....25

I-3-2-3/Le Système respiratoire.....25

I-3-2-4/Le Système digestif .....25

I-3-2-5/Le Système musculaire .....25

I-4/Les différentes castes d'une colonie d'abeille.....25

I-4-1/La reine .....26

I-4-2/les mâles ou faux bourdons .....26

I-4-3/les ouvrières .....26

I- 4.4. Leurs taches .....	27
I-4.4.1. La nettoyeuse .....	27
I-4.4.2. La nourrice.....	27
I-4.4.3. L’architecte et la maçonne.....	27
I-4.4.4. La manutentionnaire .....	27
I-4.4.5 La ventileuse .....	28
I-4.4.6. La gardienne .....	28
I-4.4.7. La butineuse.....	28
I-5/Le cycle de développement d’abeilles.....	28
I-6/Ruche au fil des saisons.....	29
I-7/Rôle des Abeilles ( <i>Apis mellifera</i> ) .....	29
I.7-1/Rôle de pollinisateur .....	30
I-7-2 Rôle économique.....	30
I-7-3/Rôle de bio-indicateur .....	30
I-8/ Maladies de l’abeille.....	30
I-8-1 /Maladies du couvain .....	30
I.8-1-1 /La loque américaine.....	30
I-8-1-2 La loque européenne .....	30
I-8-2/Maladies des adultes .....	30
I-8-2-1/La nosérose .....	30
I-8-2-2/L’acariose .....	31
I-8-3/Maladies du couvain et des adultes.....	31
I8-3-1/Les mycoses.....	31
I.8-3-2/La fausse teigne.....	31
I-8-3-3/Le <i>Varroa</i> .....	31
I-8-3-4 Les virus .....	31
I-8-4/ Les petits prédateurs.....	32

I-8-5/ Les mammifères.....	32
..	
I-9. Facteurs environnementaux favorisant les pathologies.....	32

## II- étude de la varroase

II-1. Généralité .....	33
II- 2. L'agent causal.....	34
II-3. Systématique de <i>Varroa jacobsoni</i> .....	34
II-4. Morphologie du varroa .....	35
II-4.1 forme mature.....	35
II-4.1.1 Varroa femelle .....	35
II-4.2. La forme immature .....	36
II-4.2.1 Varroa male .....	36
II-4.2.2. La larve .....	36
II-4.2.3. La protonympe .....	36
II-4.2.4. La deutonympe .....	36
II-5. La dynamique du varroa .....	37
II-5.1. Cycle évolutif .....	38
II-5.1.1. Période hors couvain .....	38
II-5.1.2. Période dans le couvain .....	38
II-5.2 augmentation de l'infestation de <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	39
II-5.2.1. Effets du <i>V. Jacobsoni</i> sur l'abeille .....	39
II-5.2.1.1. Symptômes apparents.....	40
II-5.2.2. Effet de <i>Varroa Jacobsoni</i> sur la colonie .....	40
II-6. Facteurs qui augmentent l'infection.....	41
II-6.1. Facteurs influençant la transmission.....	41
II-7. Evaluation de l'infestation par <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	41
❖ Examen du couvain .....	41
❖ Examen de l'abeille .....	42
❖ Chute naturelle .....	42
II-8. Moyens de lutte contre le <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	42
II-8.1 Lutte par traitements acaricides (chimiques) .....	43
II-8.2. Lutte par traitements biologiques .....	43

II-8.3. Lutte par traitements mécaniques .....	43
--	----

## **III- L’Huile essentielle de Citronnier**

### **III-1. Citronnier**

III-1.7 Les différentes variétés de citron .....	45
• Mayer ( <i>Citrus Mayer</i> ) .....	45
• Citron de menton .....	45
• Albo variegata.....	45
• ( <i>Citrus Limonum</i> ) .....	46
III-1.4. Description botanique de citronnier .....	46
III-1.5 La structure de Citrus .....	46
III-1.6 La systématique de citron.....	47
III-1.8 Composition biochimique de citron .....	48
III-1.9 Production de citron .....	48
III-1.9.1. Production mondiale.et algerienne.....	48
<b>III.2 Généralité sur les huiles essentielles.</b>	
III.2.1. Historique .....	48
III.2.2 Définitions.....	48
III.2.3. Marché mondial des huiles essentielles.....	49
III.2.4. Localisation et le rôle des HE dans la plante .....	49
III.2.5. Composition chimique .....	50
III.2.5.1. Groupe des terpénoides .....	50
III.2.5.2. Groupe des composés aromatiques.....	50
III.2.6. Propriétés des HE .....	51
III.2.6.1. Propriétés physico chimiques.....	51

III.2.6.2. Propriétés biologiques .....	51
III.2.6.3. Propriétés pharmacologiques.....	51
III.2.6.4. Propriétés thérapeutiques .....	51
III.2.7. Principales utilisations des HE.....	52
III.2.7.1. Industrie agroalimentaire.....	52
III.2.7.2 Pharmaceutique .....	52
III.2.7.3. Parfumerie .....	52
III.2.8. Modes d'extraction.....	52
III.2.8.1. Hydrodistillation.....	53
III.2.9. Analyse des huiles essentielles.....	53
III.2.9.1. Analyse des caractères physico-chimique .....	53
III.2.9.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CG/SM) .....	53
III.2.10. Toxicité des huiles essentielles .....	54
III.2.11. Conservation des huiles essentielles .....	54
<b>III.3 Huile essentielle de citron</b>	
III.3.1 Apports et propriétés thérapeutiques de citronnier .....	54
<b>IV-. Activité biologique des Huiles essentielles</b>	
IV.1. Activité antimicrobienne .....	55
IV.1.1. Introduction .....	55
IV.1.2. Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne .....	55
IV. 1.2.1. Aromatogramme.....	56
IV.1.2.2. Microatmosphère.....	56
IV.1.2.3. Méthode de dilution .....	56
IV.1.2.4. Détermination des concentrations minimales inhibitrices et des concentrations	

Minimales bactéricides.....	57
-----------------------------	----

## **Partie expérimentale : Matériel et méthodes**

1- Objectifs du travail .../.....	58
2. Présentation de site.....	58
2.1. -Les conditions de travail .....	58
3. Matériel biologique .....	59
3.1-matériel végétal.....	59
3.2- matériel animal.....	60
3.2.1 les abeilles (espèce hôte de l'acarien) .....	60
3.2.2-Le parasite.....	60
4.1 matériel apicole .....	61
a. les ruches.....	61
5.Méthodes.....	61
5.1. Matériel de laboratoire .....	62
5.1.1 préparation de la matière première .....	62
5.1.2 Extraction de l'huile essentielle du citron.....	62
5.1.2.1-Hydrodistillation.....	62
a. Mode opératoire .....	62
b. La Conservation de l'HE obtenue .....	63
c. Rendement d'extraction .....	63
d. Préparation de la dilution des huiles essentielles .....	63
d.1.2. Préparation de la dose.....	64
6. Etude de la mortalité naturelle de <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	64

## **Partie expérimentale : résultats et discussions**

<b>I- résultat</b> .....	66
I-1 évaluation de rendement des huiles essentielles .....	66
I-2 test de toxicité des HE de <i>Citrus lemon</i> sur l'abeille .....	66
I-3 étude de la mortalité de <i>Varroa Jacobsoni</i> .....	66
I- 4. Comparaison entre l'HE de <i>Citrus lemon</i> de résultats l'année 2019/2020 et les résultats de l'année 2016/2017.....	66
I-4.1 évaluation de la mortalité de Varroas traité par l'HE de <i>Citrus lemon</i> de l'année 2019/2020.....	66
I-4.2 évaluation de la mortalité de Varroas traité par l'HE de <i>Citrus lemon</i> de l'année 2016/2017.....	67
I-5 Comparaison entre les deux .....	68
<b>II-Discussion</b> .....	68
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	69
<b>Référence bibliographiques</b>	



### Introduction

L'homme travaille avec les abeilles depuis des millénaires. Il a élevé l'abeille domestique *Apis mellifera*, pour tirer divers produits, le miel, la gelée royale, le pollen, la cire et la propolis qui sont constitués d'une multitude de substance à actions très variées, (**Assedig et al., 2002**). Mais son rôle ne s'arrête pas là, puisqu'elle possède des fonctions indispensables à notre agriculture (la pollinisation) ainsi qu'à l'environnement, jouant ainsi un rôle important dans la survie de l'espèce végétale. (**Charpentier,2013**). Les abeilles soutiennent notre agriculture en pollinisant les cultures et augmentent donc les rendements des semences et des fruits (**FAO,2011**).

Les abeilles produisent des produits utilisés comme des produits phyto-thérapeutiques et intégrés dans la production des cosmétiques. Sans l'abeille, nous risquons de perdre la nature, la richesse de la faune et la flore et l'être humain.

Ces dernières années les apiculteurs s'inquiètent sur la disparition de l'abeille qui devient un fait reconnu, dont on peut penser que ce n'est pas le résultat d'un simple cycle temporel, mais d'un ensemble de facteur défavorable d'ordre nutritionnelle tel que l'appauvrissement de l'environnement en ressources nectarifères et poulinières, d'ordre climatique tel que, le changement climatique et la fragmentation de l'espace vital, la pollution de l'air ainsi que le brouillard électromagnétique (**Wirz,2014**). et d'ordre pathologique et toxicologique qui concerne la probabilité d'intoxications résultant de l'utilisation parfois inadéquate de pesticides de toutes sortes, dont les effets conjugués peuvent se potentialiser de façon imprévisible, qu'ils soient à protéger les cultures ou à prévenir les agression parasitaires des abeilles (acaricides)(**Imdorf et al., 2010**) et peut en résulter une plus grande fragilité des insectes mellifère, qui deviennent plus sensible aux agressions de toutes sortes(**Rerat,2006**).

A cet effet l'homme a consacré des recherches approfondies pour bien comprendre les causes de cette disparition.

Parmi les agents pathogènes de l'abeille domestique on s'est beaucoup focalisé sur la Varroase, qui est considéré comme l'une des maladies la plus répandue et la plus dangereuse. Le Varroa a été signalé pour la première fois à l'île de Java en 1904, cet acarien s'est propager dans le monde entier par plusieurs facteurs tel que la vente des reines et des essaims, ainsi que la transhumance qui ont favorisé la propagation de cette maladie (**Fernandez, 1995**). Il s'agit d'une parasitose des abeilles adultes et du couvain, qui est due au développement et à la multiplication d'un acarien ectoparasite *Varroa jacobsoni* (**Ravazzi ,2007**). Qui est 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 à des agressions physiques, à des pertes énormes en réduisant la quantité de la production apicole.

La varroase a traversé presque tout le territoire Algérien en 1981. Venue 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, Avec une consommation ne dépassant pas les 200 à 350g par habitant (**Ouyahiya,2003**), qui font ces résultats sont insuffisantes pour couvrir les besoins nationaux.

Depuis l'apparition de cette maladie, de nombreux travaux ont été réalisé afin de trouver un traitement efficace pour limiter la croissance de cet acarien. Pour cela les apiculteurs disposent de différentes méthodes qui comportent de nombreux inconvénients, comme la contamination

des produits de la ruche ou la sélection de souches d'acariens résistantes aux molécules actives), ces problèmes rendent l'abeille plus fragile et favorise la propagation de cette maladie (**Le Conte et Faucon, 2002**).

Face à cette situations plusieurs recherches ont été entreprises afin de mettre en place un nouveau concept de lutte contre ce parasite, et pour cela plusieurs techniques apicoles ont été utilisées pour lutter contre ce parasite, et parmi ses techniques la lutte biologique à base des huiles essentielles des plantes aromatiques qui offrent une solution valide car leur présence est normale dans l'ambiance de la ruche (**Colin et al,1990**).

Les huiles essentielles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques (**Hamid et al., 2011**), elles possèdent de nombreuses propriétés qui indiquent leur immense importance. Elles peuvent être : anti-infectieuses, anti-inflammatoires, antispasmodiques, antimicrobiennes, anti-oxydantes, cytotoxiques et anticancéreuses (**Bardeau, 2009**), les essences de citron sont des agents antimicrobiens à large spectre (**Randhawa et al., 2001**), elles ont des activités insecticides (**Ayvaz et al., 2010**) et sont utilisées comme pesticide dans la lutte biologique contre les ravageurs, elles agissent sur le comportement et/ou le développement de certains arthropodes et parfois être mortelles, donc en cours d'utilisations il faut respecter la posologie et le mode d'administration de ces extraites.

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire s'inscrit, sur l'étude de l'huile essentielle extraite de l'écorce de l'espèce *Citrus limon*, dans le but :

- ❖ D'extraire par hydrodistillation l'huile essentielle de l'écorce du citron et d'estimer le rendement d'extraction
- ❖ Etudier l'effet acaricide de l'huile essentielle de citronniers (*Citrus lemon*) sur le *Varroa jacobsoni* le parasite de l'abeille *Apis mellifera intermissa*
- ❖ Déterminer si la dose utilisés est efficace pour neutraliser ce parasite afin de protéger l'abeille, qui est une des sources économiques importante en Algérie

## I- La vie de l'abeille

### I-1. Historique

Il y a environ cent millions d'années, au cours du Crétacé, les premières plantes à fleurs (Angiospermes) apparaissent sur terre en procurant un apport de protéines et de glucides au règne animal. C'est probablement au même moment qu'ont émergé les insectes pollinisateurs. Ils ont résisté aux différents changements climatiques et ont Co-évolué ensemble pour aboutir aujourd'hui à 250 000 espèces d'Angiospermes et 20 000 espèces d'insectes pollinisateurs dont les abeilles. Les deux plus anciens fossiles d'abeilles constitués d'ambre ont été retrouvés aux États-Unis et dans la mer baltique et sont datés de cinquante à quatre-vingt-seize millions d'années. L'abeille mellifère, quant à elle, est beaucoup plus récente. Sa présence remonte en effet à environ 2 millions d'années (**Adam, 1985**) (Figure n°1).



**Figure n°01 : Abeille**

### I-2/Abeilles Algériennes

En Algérie, on a deux types de races d'abeilles :

#### I-2-1/ Races autochtones

Il existe en Algérie deux races ou sous espèces d'abeilles autochtones

- ❖ L'abeille Saharienne ou *Apis mellifera* Sahariensis (**Baldenperger, 1922**).
- ❖ L'abeille Tellienne ou *Apis mellifera Intermissa* (**Buttel-Reepen, 1906**).

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

Selon **Cornet et al., (1988)**, la position systématique de cette race est :

Embranchement : Arthropodes

Sous embranchement : Mandibulates

Classe : Insectes

Sous – classe : Ptérygotes

Ordre : Hyménoptères

Sous - ordre : Apocrites

Section : Aculéates

Famille : Apidés

Genre : *Apis*

Espèce : *Apis mellifera*

Sous – espèce : *Apis mellifera Intermissa*

### **I-2-2/Races introduites**

Des races Européennes ont été introduites en Afrique du nord, ce sont : *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera ligustica*, *Apis mellifera caucasica* et *Apis mellifera carnica*. L'introduction d'abeilles étrangères a pour conséquences inévitables l'apparition de familles de races croisées, plus agressives et plus actives que des abeilles de races pures (**Ahmim, 2008**).

### **I-3/ Anatomie générale d'*Apis mellifera***

#### **I-3-1/Morphologie externe**

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 n°2).

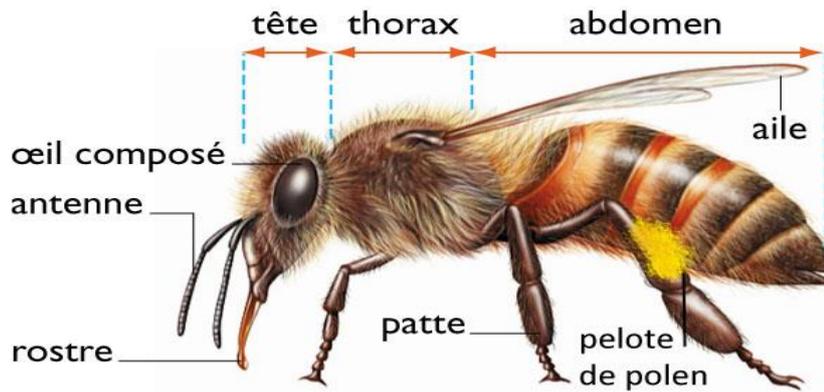


Figure n°02 : anatomie externe de l'abeille.

### I-3-1.1 La tête

La tête est une capsule ovoïde qui, extérieurement présente deux yeux composés et trois ocelles, deux antennes et les pièces buccales. Elle porte les principaux organes des sens et renferme un cerveau d'un volume important, ainsi que les glandes hypophrygiennes, labiales et mandibulaires (**le conte,2006**).

### I-3-1.2/ Le thorax (mésosome)

C'est la partie la plus dure du corps (**Riondet, 2013**). Situé entre la tête et l'abdomen, le thorax est constitué de trois segments communs à tous les insectes, plus une extension de premier segment abdominal (spécifique de hyménoptères).il porte les éléments locomoteurs de l'abeille : deux paires d'ailes membraneuses et trois paires de pattes, et contient des muscles puissants pour les faire fonctionner. Trois paires d'orifices respiratoires appelés stigmates débouchent symétriquement sur le côté du thorax (**le conte 2006**).

### I-3-1.3/ L'abdomen (métasome)

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

### I-3-2/Morphologie interne

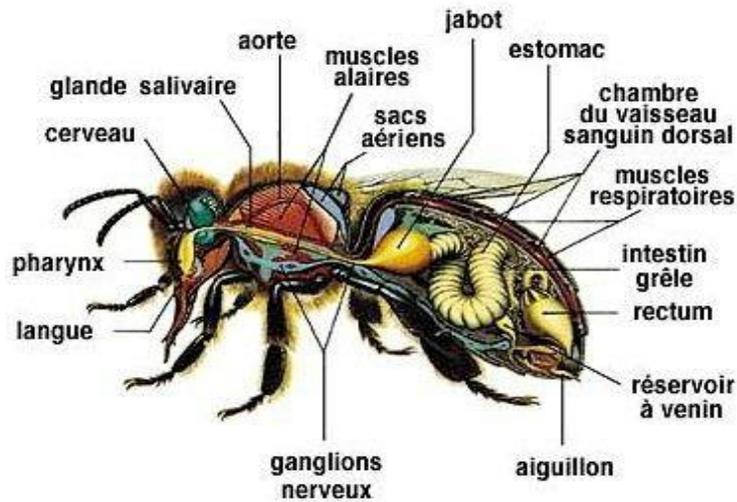


Figure n°3 : morphologie interne de l'abeille

#### I-3-2.1/Le Système circulatoire

Selon **le conte (2006)** c'est un système ouvert avec un vaisseau dorsal allant de l'extrémité de l'abdomen à la tête : l'hémolymphe, prélevée dans l'abdomen, est projeté par cinq ventricules de la cavité abdominale dans l'aorte thoracique puis dans la tête, où débouche le canal de l'hémolymphe. Des muscles abdominaux, attachés aux diaphragmes ventral et dorsal, aident à la circulation et au retour de l'hémolymphe vers les ventricules abdominaux.

Le rôle de système circulatoire est de transporter dans les différentes parties du corps de l'abeille, les éléments nutritifs, les produits de dégradation cellulaires et les Oenocytes, cellules qui participent à la défense de l'organisme.

#### I-3-2-2/Le Système nerveux

Le système nerveux de l'abeille est constitué de deux ensembles complémentaires :

- le système nerveux central, avec le cerveau et la chaîne nerveuse ventrale ;
- le système nerveux stomatogastrique, lié à l'activité et au fonctionnement des organes internes, est l'équivalent du système nerveux sympathique des mammifères. Ce système, présent chez les insectes, a été peu décrit chez l'abeille (**le conte, 2006**).

#### I-3-2-3/Le Système respiratoire

Le système respiratoire, elle rejette l'air par des orifices appelés stigmates, situés de chaque côté des segments thoraciques et abdominaux. Ses vingt stigmates forment une structure complexe ou une valve et un système musculaire, qui permettent la fermeture d'une chambre de poils filtrant l'air (**le conte, 2006**).

### I-3-2-4/Le Système digestif

D'après (Biri 2010), l'appareil digestif comprend, outre les pièces l'appareil buccales, le tube digestif qui s'étend de l'orifice buccal à l'orifice anal, situé au-dessous du vaisseau dorsal (cœur) et au-dessus de la chaîne ganglionnaire ventrale, le tube digestif est composé de trois parties : l'intestin antérieur, l'intestin moyen et l'intestin postérieur.

### I-3-2-5/Le Système musculaire

L'appareil musculaire de l'abeille est constitué par des fibres musculaires striées, entourées par une membrane transparente et élastique appelée sarcolemme. Grâce à ce puissant système de propulsion, l'abeille peut parcourir 500m par minute (Biri,2010).

### I-4/Les différentes castes d'une colonie d'abeille



Figure n°04 : les castes d'une colonie d'abeille

#### I-4-1/La reine

Il y a en principe une seule reine par ruche. C'est la mère de toute la colonie. Elle se caractérise par sa longue taille et son abdomen très développé. La durée de vie de la reine est de 3 à 4 ans (Martin,2009). Durant son stade larvaire, elle consomme uniquement de grandes quantités de gelée royale pendant environ 4 à 6 jours lui permettant d'atteindre un poids variant entre 178 et 292 mg à l'âge adulte (Winston, 1993). Née 16 jours après la ponte de l'œuf, elle mesure en moyenne 16 mm de long et son thorax atteint 4.5mm de diamètre (Biri 2010). Une semaine après sa naissance, la reine s'accouple une seule fois avec 6 à 30 mâles durant un vol d'accouplement (le vol nuptial), elle stocke le sperme dans un organe spécialisé appelé spermathèque, la reine peut pondre jusqu'à 2000 œufs fécondés par jour, ils sont issus de pères différents donnant naissance à une fratrie qui permet d'augmenter la diversité génétique de la colonie (Oldroyd et al., 1995).

Elle possède un dard lisse qui lui permet de piquer à plusieurs reprises pour éliminer les concurrentes et une poche à venin plus grande. Ses principales fonctions sont la ponte des œufs et la régulation des activités de la colonie par la sécrétion des phéromones produite par les glandes mandibulaires (stimulation de la production de cire, inhibition de la construction d'alvéoles royales, inhibition du développement ovarien des ouvrières) (le Conte, 2004) (Figure n°4).

### I-4-2/les mâles ou faux bourdons

Ils sont environ plusieurs centaines par ruche (**Paterson, 2008**) Ils se caractérisent par un gros abdomen, absence de dard et d'organes adaptés pour la récolte de nectar et de pollen (**Suchail,2001**). Ils mesurent 15mm de long pèsent 230 mg, sont plus trapus, plus velus que les ouvrières, leurs yeux sont plus gros et placés au-dessus de leur tête ne possèdent pas de dard. Ils naissent uniquement au printemps 24 jours après la ponte, et sont issus d'un œuf non fécondé, c'est ce que l'on appelle la parthénogénèse, (Figure n°4)

Ils jouent un rôle principalement dans la reproduction et peuvent également participer à la ventilation en cas de forte chaleur (**Belzunces et al., 1996**).

Leur temps de vie au stade adulte ne dépasse pas 60 jours et souvent moins en cas d'accouplement, qui peut leur être fatal (**Brown et Baer, 2005 ; Page et Peng, 2001**).

Leur appareil génital est arraché lors de la fécondation. Incapables de butiner, ils puisent dans les réserves de miel de la ruche. A l'automne, quand la nourriture devient moins abondante, les faux-bourdons sont tués ou expulsés de la ruche. Ne sachant pas se nourrir seuls, ils meurent.

### I-4-3/les ouvrières

Les ouvrières sont issues d'œufs fécondés et naissent 21 jours après la ponte de l'œuf.

Ce sont des femelles stériles (non reproductrices) mais possèdent des organes spécialisés pour la récolte de nourriture, la construction ou la défense du nid (**Phan- Delegue, 1998**).

En effet, à sa naissance l'ouvrière est nettoyeuse puis devient cirière, magasinrière, gardienne et butineuse jusqu'à la fin de ses jours (**Spurgin, 2008**). Deux catégories d'ouvrières se succèdent au cours de l'année : les abeilles d'été qui vivent environ quarante jours (entre trois et six semaines) et les abeilles d'hiver qui survivent jusqu'au printemps suivant, soit quatre à cinq mois. Les abeilles d'été voient leurs tâches évoluer en fonction de leur âge (**Le conte, 2004**). (Figure n°4)

#### I-4.4 Leurs taches d'après le conte, (2006)

**I-4.4.1. La nettoyeuse** : se sont généralement les très jeunes abeilles qui préparent les cellules pour la ponte de la reine.

**I-4.4.2. La nourrice** : les ouvrières nourrices, assument les différents soins indispensables au développement du couvain. En particulier, elles produisent la nourriture nécessaire aux larves et distribuent sélectivement en fonction de leur âge et leur caste.

**I- 4.4.3. L'architecte et la maçonne** : les travaux de construction réalisés par les abeilles à l'intérieur de la ruche sont de type. Les alvéoles sont élaborées par un groupe d'ouvrières et les réparations ultérieures, modifications et operculation de cellules constituent des activités individuelles

**I-4.4.4. La manutentionnaire** : lorsque la butineuse revient à la ruche avec son fardeau, elle cherche à s'en décharger pour repartir butiner. Ce sont les ouvrières manutentionnaires, dont l'âge moyen se situe vers 15 jours, qui vont gérer le devenir du butin, en particulier le miel et le pollen

**I-4.4.5 La ventileuse** : les abeilles pratiquent la ventilation pour gérer le micro climat de la colonie, en particulier la température. Elles utilisent aussi cette technique pendant l'essaimage, lors de rappel qui sert à regrouper les abeilles.

**I-4.4.6. La gardienne** : les gardiennes assurent un rôle fondamental de défense.

**I-4.4.7. La butineuse** : le comportement de butinage est développé par les abeilles les plus âgées et vise à récolter les éléments nutritifs nécessaires à la colonie : nectar, pollen et eau, ainsi qu'à propolis utilise dans la construction du nid.

### I-5/Le cycle de développement d'abeilles

Les abeilles sont dites insectes holométaboles ou à métamorphose complète. Elles sont complètement différentes à l'état larvaire et à l'état adulte (**Biri, 2010**)

Le cycle de développement d'une abeille adulte quel que soit son caste est identique et passe par trois étapes : stade de l'œuf, stade larvaire, stade nymphal (**Prost, 2005 ; Von Frisch, 2011**) mais la durée de développement est variable ; ainsi la reine a le cycle le plus court, les faux-bourçons ont le cycle le plus long, par contre les ouvrières ont le cycle intermédiaire (**Prost, 2005**). Ces durées de vie sont des moyennes, puisqu'elles sont différentes en fonction des sous-espèces d'abeilles. Elles varient également en fonction de facteurs environnementaux comme la température (la température idéale nid pour le développement du couvain est de 35°C), l'humidité et la nutrition du couvain (**Winston, 1993**). Ainsi dépendante de facteurs génétiques (**Le Conte,2011**) (Figure n°5)

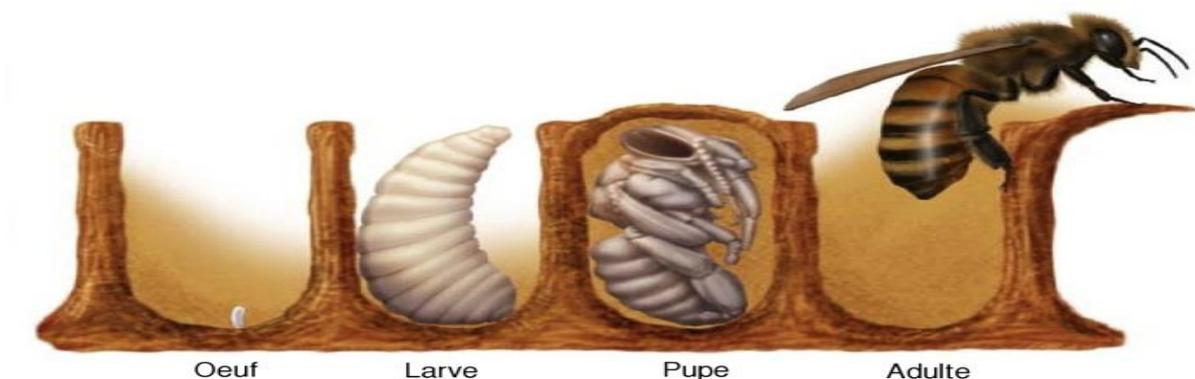


Figure n°05 : le cycle de développement d'abeilles

### I-6/Ruche au fil des saisons

Le nombre d'individus de la colonie varie selon la saison et la force de chaque ruche. Ce nombre est de 20 000 à 60 000 individus durant la belle saison (printemps), et il chute à 15 000 jusqu'à 5000 en hiver (**Ravazzi, 1996**).

Au printemps, les abeilles sortent de la ruche et commencent à butiner dès les premières floraisons. La reine reprend ses pontes, et de jeunes abeilles remplacent celles de C'est : la phase de développement.

**En mai – juin**, les abeilles sont très nombreuses (plus de 40 000) ; les ouvrières élèvent alors les larves de reines. Peu avant la naissance, la vieille reine quitte la ruche avec une partie des abeilles et crée une nouvelle colonie. C'est : la phase d'essaimage.

Du printemps au milieu de l'été, les abeilles profitent au maximum des fleurs mellifères pour stocker le miel.

**En août**, la reine réduit sa ponte, la colonie diminue, les faux-bourdons sont expulsés de la ruche, c'est : la phase de préparation à l'hivernage.

**En automne**, les abeilles butinent les dernières fleurs, la reine reprend sa ponte pour faire naître les abeilles qui traverseront l'hiver.

**En hiver**, les abeilles restent à l'abri dans la ruche. La colonie est réduite et se serre en grappe autour de la reine qui a cessé de pondre, se nourrissant sur les réserves accumulées au printemps, la température est maintenue au centre de la grappe à 34°-35°C. C'est : la phase d'hivernage (**Prost, 1990**).

### I-7 Rôle d'Abeilles (*Apis mellifera*)

#### I-7-1 Rôle de pollinisateur

Les abeilles participent à la reproduction de plus de la moitié des espèces de plantes à fleurs (**Prost, 1990**). 80% des plantes ont absolument besoin des abeilles pour être fécondées, et sans elles, il n'y aurait plus de fruits ou de légumes (**Diemer, 1988**). Elles favorisent la diversité et l'amélioration de rendements de nombreuses plantes cultivées en quantités et en qualités.

#### I-7-2 Rôle économique

En butinant les fleurs à la recherche de nectar et de pollen, l'abeille participe activement à la pollinisation de la flore sauvage tel que : l'aubépine (*Crataegus oxyacantha*), l'églantier (*Rosa canina*), le sorbier (*Sorbus domestica*) mais également des plantes cultivées, favorisant ainsi leur reproduction et améliorant les récoltes (**Toullec, 2008**).

#### I-7-3/Rôle de bio-indicateur

En observant la mortalité des abeilles et en détectant les résidus de pesticides, métaux lourds ou molécules radioactives dans les produits de la ruche, l'abeille domestique permet

ainsi de détecter les polluants organiques et inorganiques dans son environnement (Toullec,2008).

« Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années À vivre » – *Albert Einstein*.

### I-8/ Maladies de l'abeille

Comme tous les êtres vivants, les abeilles sont menacées par des maladies, les plus dangereuses qui sont :

#### I-8-1 /Maladies du couvain

##### I-8-1-1 /La loque américaine

La loque américaine est une maladie contagieuse grave qui affecte les larves d'abeille operculées. Elle est due à une bactérie dénommée *Paenibaillus larvea*, et se caractérise cliniquement par la mort, la putréfaction et la dessiccation des larves atteintes.

##### III-8-1-2 La loque européenne

La loque européenne est une maladie infectieuse et contagieuse du couvain d'abeille moins dangereuse que la loque américaine. Les trois castes d'abeilles sont atteintes par la maladie elle affecte le couvain, principalement avant l'operculation.

#### I-8-2/Maladies des adultes

##### I-8-2-1/La nosérose

La nosérose est une maladie parasitaire des abeilles adultes. Elles sont dues à un protozoaire (animal unicellulaire), *Nosema apis*, qui se développe dans le tube digestif de l'abeille au niveau de l'intestin moyen. C'est une des cinq maladies réputées légalement contagieuses de l'abeille. (Brabançons,2006).

##### I-8-2-2/L'acariose

L'acariose des trachées est une maladies contagieuse grave provoquée par un acarien, parasite interne qui se localise dans les trachées de l'abeille : *Aarapis woodi*. Ce parasite s'attaque aux trois castes d'abeilles adultes : reine, abeilles, faux bourdons. (Brabançons,2006).

#### I-8-3/Maladies du couvain et des adultes

### I-8-3-1/ Les mycoses

Les mycoses sont des maladies dues à des champignons pathogènes. La principale mycose de l'abeille affecte le couvain. Elle est la conséquence du développement dans les larves d'*Ascospahaera apis*, qui provoque leur mort et l'apparition du couvain plâtre ou calcifié. **(Brabançons, 2006)**

### I-8-3-2/ La fausse teigne

Il y a deux fausses teignes, espèces voisines de papillons, capables de parasiter les ruches ou les rayons stockés. Elles ne sont pas cause de mortalité directe mais profitent de l'affaiblissement des colonies pour se développer. **(Brabançons, 2006)**.

### I-8-3-3/ Le *Varroa*

Parasite habituel de l'abeille domestique ayant été véhiculé sur l'ensemble des continents par des transferts d'abeilles reproductrices ou de ruches, reste une des causes initiales ou partielles envisageables comme affaiblissant les abeilles et propageant des infections virales associées **(Chauzat et al., 2010 ; Topolska et al., 2010 ; Martin et al., 2012)**.

### I-8-3-4 Les virus

À ce jour, une vingtaine de virus sont identifiés comme de possibles causes de maladies chez l'abeille. Ces virus subissent généralement à l'état latent dans les colonies et c'est souvent leur association avec d'autres facteurs qui déclenche des maladies virales. **(Brabançons, 2006)**.

### I-8-4/ Les petits prédateurs

L'abeille, comme tout être vivant, a nombre d'ennemis : des prédateurs qui la chassent, mais aussi des animaux vivant en parasites au détriment de la colonie en consommant miel ou pollen, ou encore simplement des perturbateurs de la vie de la ruche. **(Brabançons, 2006)**

Exemple : les oiseaux (guêpier), les reptiles et les insectes (fourmis).

### I- 8-5/ Les mammifères

Certains mammifères sont des ennemis occasionnels de l'abeille, soit par les perturbations qu'ils causent dans les colonies pendant l'hiver, soit par la consommation des abeilles ou des provisions des ruchées. **(Brabançons, 2006)**. Exemple : l'ours les souris...etc.).

## I- 9. Facteurs environnementaux favorisant les pathologies

D'après **Fernandez et Coinneau, (2007)** les apports en pollen doivent être suffisants et variés pour satisfaire les besoins qualitatifs et quantitatifs de la colonie mais aussi les cultures

intensives jouent un rôle important dans la perte de la biodiversité car ils se caractérisent par des grandes surfaces de monocultures, traitées par des herbicides donc totalement dépourvus de flore sauvage. La généralisation des traitements phytosanitaires (dès le début des années 1950) pèse sur la flore et la faune agricole. La plupart des insecticides agissent sur le système nerveux. Les abeilles ne se ramassent plus à la pelle devant les ruches mais celles-ci se dépeuplent lentement (**Toullec, 2008**). Le réchauffement climatique provoque aussi une évolution de la flore et par conséquent une évolution, voire la disparition de la faune pollinisatrice Associée (**Haubruge et al., 2006**).

## II- La Varroase

### 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 (ectoparasite) macroscopique (visible à l'œil nu), *Varroa jacobsoni* (Oudemans,1904).

Le Varroa a été découvert pour la première fois en Inde (sur l'île de Java) par JACOBSONI en 1904, et décrit par le hollandais Edward Oudemans d'où le nom scientifique : *Varroa jacobsoni* Oudemans. L'hôte d'origine de Varroa est l'abeille d'Asie *Apis cerana* (Colin et al.,1983).

Dès lors la parasitose a connu une extension de plus en plus rapide. Au gré des transhumances et des échanges commerciaux. L'infestation de nouvelles colonies étant autorisée par la phorésie. Le Varroa était détecté dans l'ensemble des républiques soviétiques avant la fin des années 1960(Colin et al.,1983).

Le passage du parasite sur *Apis mellifera* semble dater des années 1960. Car, dans la région soviétique d'Oussouri, 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 alors qu'il ne constitue pas aujourd'hui une menace pour *Apis cerana*. (Donzé ;1995 in Wendeling ,2012).

En 1980, *Varroa Jacobsoni* atteint les rivages méditerranéens par la Grèce et la Yougoslavie Sur les autres fronts, Varroa atteint le continent africain par la Tunisie, vraisemblablement en 1975, à la suite de l'importation de plusieurs centaines de colonies en Provinces de Roumanie. La parasitose gagne du terrain vers l'ouest en Algérie, mais aussi l'est et le sud en direction de la Libye. (Figure 06) (vanille boin,1991), aujourd'hui le *Varroa Jacobsoni* touche une très grande partie du monde.

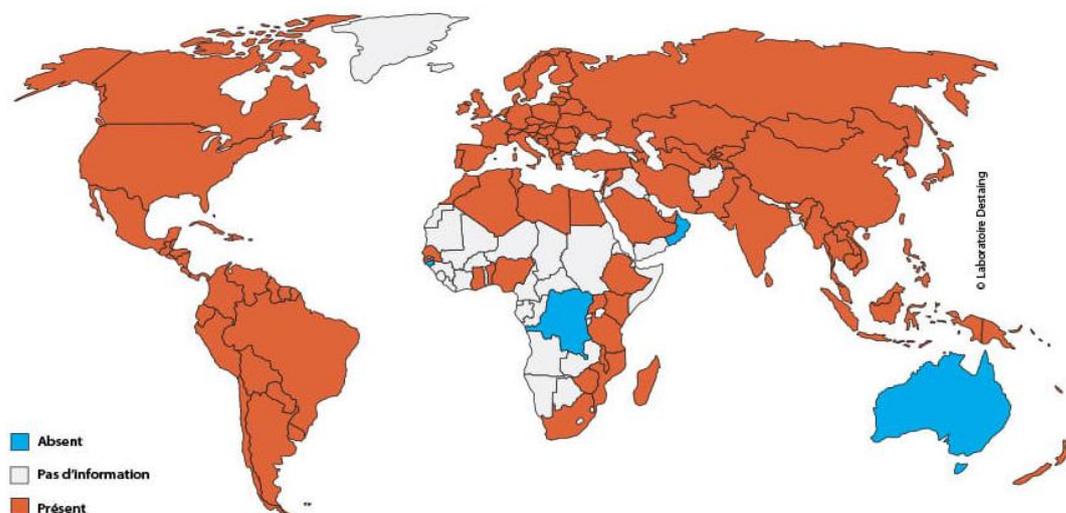


Figure n° 06 : Répartition de le *Varroa* dans le monde (FERNANDEZ ,2001)

## II--2. L'agent causal de la varroase

Le Varroa est le principal ravageur des abeilles, car il occupe le premier rang dans le monde arabe et le monde en termes d'importance parmi les maladies et ravageurs les plus nuisibles pour les abeilles. (Figure n°07)

Le danger du parasite réside dans la vitesse de sa reproduction et de sa propagation, provoquant la destruction des colonies d'abeilles. (Colin et al.,1999)



Figure n° 07 : Vue microscopique du *Varroa Jacobsoni* (MARTIN,1994)

## II- 3. Systématique de Varroa

Selon Edward Oudemans,1904, le *Varroa Jacobsoni* appartient à :

Régne	Animal
Sous règne	Métazoaires
Embranchement	Arthropodes
Sous embranchement	Chélicérates
Classe	Arachnides
Ordre	Gamazidas
Sous ordre	Mesostigmates
Famille	Varroadaes
Sous famille	Varroanas
Genre	Varroa
Espèce	<i>Varroa Jacobsoni</i>

(Edward Oudemans,1904)

Le genre *Varroa* est composé de quatre espèces ;*Varroa jacobsoni* (décrite par Oudemans en 1904), *Varroa underwoodi* ( décrite par Ddelfinado-baker et aggarwale en 1987), *Varroa rindereri* ( décrite par De Guzman et Delfinado-baker en 1995) et *Varroa destructor* (décrit par Anderson et Trueman en 2000). (Treilles, 2002).

## II--4. Morphologie

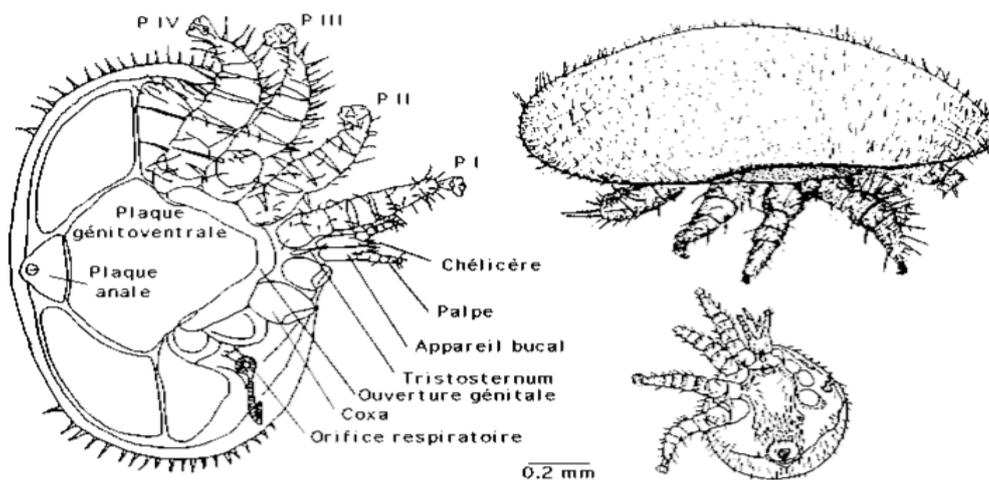
## II--4.1. La forme mature

## II- 4.1.1 La femelle

Elle représente la forme de dissémination et de résistance de l'espèce hors du couvain d'abeilles. (Colin et al., 1999) (Figure n°08)

- **Forme du corps** elliptique avec une légère concavité de la partie supérieure de la carapace; plat (marron)
- **Couleur** Le brun jaunâtre foncé devient brun foncé avec l'âge.
- **Hauteur** 1100 microns (1,1 mm)
- **Largeur** 1600 microns (1,6 mm)
- **Plaque dorsale** une chitine très dure recouverte de soies centraux en plumes et d'un plus grand nombre de soies droits pointus.
- **Aspect abdominal** Il est composé de plusieurs feuilles séparées par une fine membrane interne entre elles, ce qui permet une expansion pendant l'alimentation et pendant la formation des œufs.
- **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 musculueux permet la succion de l'hémolymphe de l'hôte après la piqûre.

A l'extrémité postérieure se situe l'orifice anal. Les deux stigmates respiratoires 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.



**Figure n° 08 :** Vue ventrale (à gauche) et dorsale d'une femelle adulte *V. Jacobsoni* ; mâle adulte en vue ventrale (en bas) (Rémy Vandame et Marc Colin,1999).

## II-4.2. La forme immature

### II- 4.2.1 Le male

Les formes immatures de *Varroa jacobsoni* n'existent qu'à l'intérieur du couvain operculé

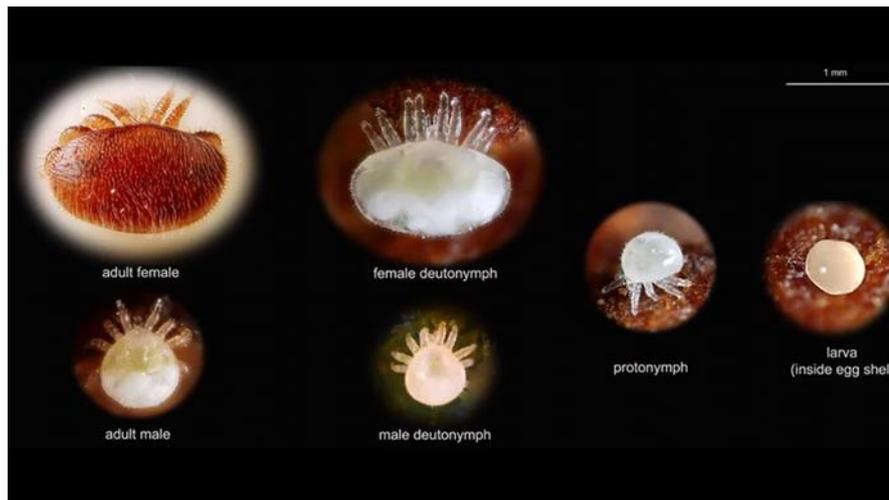
- **Forme du corps** poire, sphérique Sa carapace est molle. (Colin et al., 1999).
- **Couleur:** blanc jaunâtre
- **Hauteur:** 750 microns (0,7 mm)
- **Largeur:** 870 microns (0.8 mm)
- **Taille:** légèrement plus petite que la femelle.
- **Plaque dorsale:** entièrement recouverte de capillaires.
- **Son appareil buccal** n'est pas adapté à la succion de l'hémolymphe. Les chélicères modifiées permettent le transport des spermatophores. La bouche du mâle est primitive, sténographique et dépend de la nutrition des autres.

**II- 4.2.2. Les œufs** Sont blanchâtres, entourés d'une enveloppe contenant le vitellus. Ils mesurent 0,5 mm.

**II-4.2.3. La larve** est immobile et enfermée dans la membrane de l'œuf, elle est grossièrement sphérique. Elle présente un corps piriforme et mesure 0,5 mm de large et 0.7 de long. Elle ne possède que trois paires de pattes et les chélicères. (Colin et al., 1999). (Figure n°09)

**II- 4.2.4. Les protonymphes** issues des larves sont mobiles, mesurant 0,6 mm de longueur et 0.5 mm de large. Son corps est globuleux de couleur blanc perlée. Il est très difficile de distinguer mâles et femelles à ce stade. (Colin et al., 1999). (Figure n°09)

**II- 4.2.5. Les deutonymphes** leur femelles ont à peu près la forme et la taille de l'adulte, Le corps devient ellipsoïde 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 piriforme par rapport à la femelle. (Colin et al., 1999). (Figure n°09)



**Figure n° 09 :** Composition d'une famille *V. Jacobsoni* observée dans une alvéole de couvain d'ouvrières approximativement 11 jours après l'operculation (**Rosenkranz et al., 2010**).

## II-5. La dynamique du Varroa

### II-5.1. Cycle évolutif

Le cycle du *Varroa* se fait dans la cellule après operculation. C'est donc un parasite de l'adulte et du couvain dont la présence est nécessaire pour son développement.

Seule la femelle est hématophage, quant au mâle, il ne sert qu'à la reproduction.

La femelle *Varroa* se nourrit par piqûre de l'hémolymphe (le sang) de l'abeille. La reine, les ouvrières et les faux-bourçons sont tous touchés et à tous les stades de leur développement (larve, nymphe, abeille adulte). La durée de vie d'un parasite est adaptée au cycle de vie de l'abeille. En été, la femelle *Varroa* vit entre un et deux mois, en hiver, entre six et huit mois. Le mâle meurt après l'accouplement (**Shutler, 2014**). Le cycle du développement du *Varroa* comporte deux périodes : (Figure n°10)

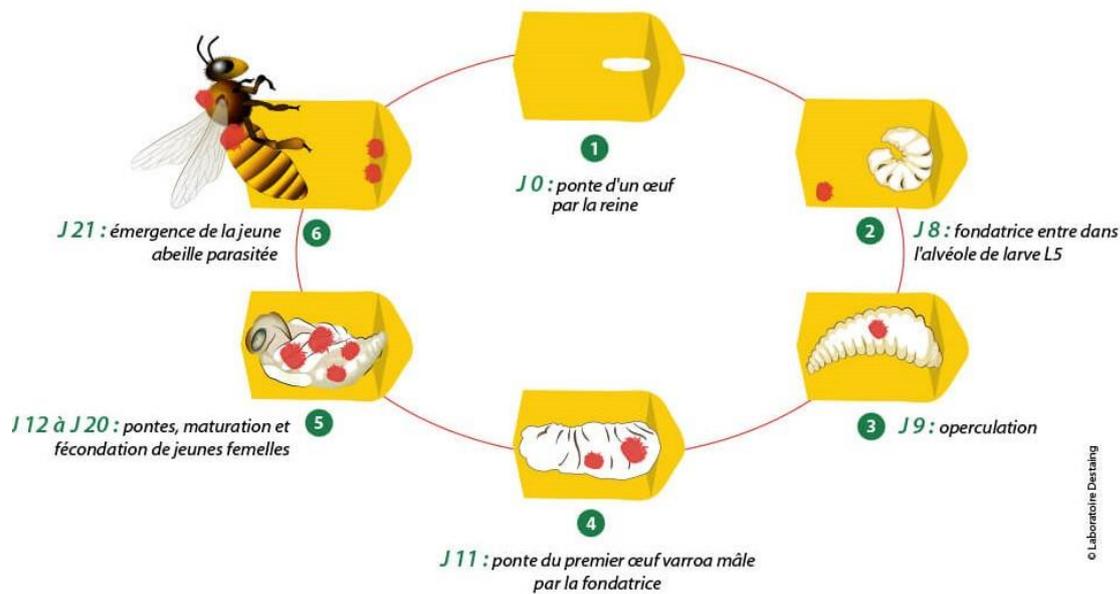


Figure n°10 : cycle évolutif du *Varroa Jacobsoni* (MARTIN,1994)

### II-5.1.1. Période hors couvain

Elle est appelée phorétique, pendant cette période l'acarien est sur l'abeille adulte (Figure :10). Cette période est courte, environ une semaine quand il y a de l'élevage, mais très longue jusqu'à quatre mois en absence de couvain. Il se nourrit de l'hémolymphe de l'abeille et l'affaiblit. Pendant la phorésie, la transmission de la varroase se fait par le butinage, la dérive, le pillage et surtout l'essaimage (Ellis et Zettelnalen, 2010). La phorésie constitue une phase d'attente, en attendant l'infestation du couvain pour un nouveau cycle de reproduction (Al Ghzawi, 1993 in Wendling, 2012).

### II-5.1.2. Période dans le couvain

La femelle *Varroa* se loge dans une cellule occupée par une larve juste avant son operculation, elle est appelée : femelle fondatrice, elle se place sous la larve dans la bouillie larvaire, et en cas de forte infestation, plusieurs femelles peuvent se loger dans la même alvéole. Elle préfère les cellules de couvain mâle qu'elle distingue à l'odeur (Colin, 1982 et Iftandis, 1988).

La femelle pond de deux à huit œufs, le premier pondu 60 heures après operculation donnera un mâle, les autres des femelles toutes les 30 heures environ, Une fondatrice peut effectuer plusieurs cycles de ponte, elle atteint l'âge adulte en 7 à 8 jours, le mâle *Varroa* atteint l'âge adulte en 5 à 7 jours (Colin, 1982 et Robaux, 1986).

Avant que l'abeille ne sorte de la cellule, les mâles doivent féconder les femelles, seules les femelles fécondées peuvent parasiter les abeilles adultes et survivre en dehors du couvain. Les

mâles ainsi que les femelles non fécondées ne survivent pas, quand la jeune abeille adulte émerge, ils meurent de faim ou de déshydratation et sont jetées par les ouvrières au fond de la ruche lors du nettoyage de la cellule. Le *Varroa* peut ensuite être facilement transporté par les abeilles d'une colonie à une autre, et le cycle de reproduction recommence.

## II-5.2. Augmentation de l'infestation de *Varroa Jacobsoni*

L'augmentation de la population du *Varroa* suit celle de la colonie d'abeille. La situation devient critique en fin d'été quand le couvain diminue alors que le rythme de reproduction de *Varroa* continue. L'infestation est à son minimum en hiver, elle augmente au cours de la saison apicole ou les cellules du couvain mâle sont beaucoup plus infestées que celles du couvain des ouvrières et elle atteint son paroxysme en automne (**Boot, 1995**).

### II-5.2.1. Effets du *V. Jacobsoni* sur l'abeille

Le *Varroa* se nourrit de l'hémolymphe, il prive l'abeille de nombreuses cellules sanguines et de protéines (**Colin, 1999**). La gelée produite par les nourrices est alors de moins bonne qualité ce qui nuit au développement du couvain (**Pinto et al., 2011**).

La durée de vie des abeilles est réduite, car le parasite diminue leur capacité de vol ainsi que leur activité dans la ruche (**Fernandez et Coinneau, 2007**).

Le *Varroa* par son rôle de vecteur injecte les virus qu'il porte directement dans l'hémolymphe de l'abeille.

L'acarien peut aussi transporter des agents pathogènes qui compliquent la parasitose. L'abeille, une fois parasitée par un acarien et infestée par un virus, pourrait en effet être plus sensible aux effets toxiques des pesticides présents dans l'environnement. (**Adjlane, 2012**), permis les virus :

- APV (Acute Paralysés Virus) qui est responsable de la mort de grosses abeilles infectées par *Varroa*.
- Virus de paralysie chronique CPV (moins)
- Noircissement des abeilles (virus Arkansas).
- Virus de la couvée.
- Virus du Cachemire.
- Virus DWV qui provoque la déformation des ailes.

Ainsi la varroase est souvent associée au développement d'autres maladies telles que : la maladie des ailes déformée (Figure 11), la paralysie aiguë et la loque (**Bowen-Walker et al., 1999**),



**Figure n° 11** : Abeille saine (à gauche) et abeille parasitée par *Varroa* (à droite) (Wendeling, 2012).

#### II-5.2.1.1. Symptômes apparents

- ❖ Les abeilles sont inefficaces pour voler car les abeilles rampent contre les cellules. (Figure n°12)
- ❖ Incapacité de répondre à la nutrition de l'automne et de l'hiver.
- ❖ Incapacité à collecter le nectar et le pollen.
- ❖ Les ailes ont cessé de grandir.
- ❖ Palais abdominal.
- ❖ Abeilles marchant effrayantes.
- ❖ Une infection grave provoque la mort de la couvée, donnant des symptômes similaires à la maladie de la couvée européenne.
- ❖ Diminution de la production de miel en raison du manque des ouvrières.



**Figure n°12** : des abeilles mortes avec des ailes déformées (Adjlane, 2012).

### II-5.2.2. Effet de *Varroa Jacobsoni* sur la colonie

La colonie d'abeille paraît normale quand l'infestation par *Varroa* est faible, mais lorsque l'infestation est importante on assiste à une diminution brutale du nombre d'abeille.

Le couvain est en mosaïque et il paraît négligé, des alvéoles ouvertes et des alvéoles vides (Figures :13). Les réserves en miel et pollen apparaissent disproportionnées par rapport à la force de la colonie. La mort de la colonie survient la plupart du temps pendant l'hiver (Wendeling, 2012)



Figure n°13 : Couvain d'ouvrières parasité par *V. Jacobsoni* (Wendeling, 2012).

### II-6. Facteurs qui augmentent l'infection

- Le climat tempéré
- L'absence de toute légitime défense des abeilles contre le parasite.
- Le cycle de vie du parasite est court (7-8) jours par rapport au cycle de vie des abeilles (21 jours pour les ouvrières, 23 jours pour le mâle) afin que le parasite puisse terminer le cycle de vie dans le couvain.
- Les cellules elles-mêmes protègent *Varroa* en été et en hiver.
- Les cellules faibles sont au centre de la distribution des infections. Quant aux cellules fortes, la température 35°C au couvain n'est pas adaptée à la croissance des parasites.

### II-7. Evaluation de l'infestation par *Varroa Jacobsoni* (Dépistage)

Il existe trois façons pour évaluer l'infestation par *Varroa*, directement dans le couvain, et sur les abeilles et indirectement par la chute naturelle de *Varroa*. La méthode visuelle est trop imprécise, toutefois elle peut donner une impression générale du degré d'infestation (Develin, 2001 in Giovenazzo, 2011).

#### ❖ Examen du couvain

Cette méthode consiste à prélever les acariens qui se trouvent dans les cellules du couvain operculé, elle donne une idée sur le taux d'infestation de celui-ci, en effet 50 à 90 % des

*Varroas* se trouvent dans les cellules operculées du couvain (**Rosenkranz et al., 2010**). L'opercule protège ainsi la plus grande partie de la population lors de l'application des traitements ponctuels peu rémanents.

### ❖ Examen de l'abeille

Le principe est de ramasser 150 à 300 abeilles par colonie, les mettre dans un bocal contenant de l'alcool ou bien de l'eau plus un détergent, agiter et compter le nombre de *Varroa* tombé. Leur pourcentage par rapport aux abeilles prélevées nous donne le degré d'infestation de la colonie (**Cantin, 2012**) Un *Varroa* visible sur une abeille égal 5 à 10 *Varroas* présents dans le couvain (**Martin, 1994**).

### ❖ Chute naturelle

Sur le plancher de la ruche, on place un plateau enduit de graisse protégé d'une grille pour empêcher le nettoyage spontané des ruches par les abeilles. Cette méthode est plus représentative, son avantage est qu'on puisse récolter les *Varroas* morts à n'importe quelle période de l'année (**Labeste, 2013, Ghomari, 2014**). Elle est plus précise que les deux précédentes, elle ne nécessite pas l'ouverture de la ruche. C'est une méthode qui consiste à établir un taux moyen de *Varroa* par jour, ainsi 24 *Varroas* observés sur six jours = 4 *Varroas* par jours (**Rosenkranz et al., 2010**).

## II-8. Moyens de lutte contre le *Varroa Jacobsoni*

Les stratégies de lutte contre le *Varroa* utilisé actuellement peuvent être réparties en trois grandes catégories, les deux premières étant les plus largement employées : les méthodes chimiques à base d'acaricides de synthèse, les méthodes biologiques à base d'acides organiques ou d'huiles essentielles et les méthodes mécaniques. (**Mondet et al., 2016**).

### II-8.1. Lutte par traitements acaricides (chimiques)

Le contrôle du parasite a été réalisé par l'utilisation d'acaricides efficaces contre l'acarien et tolérés par l'abeille *Apis mellifera* (**Wendeling, 2012**), Les qualités recherchées pour un traitement sont:

- ✓ Une bonne efficacité vis-à-vis de l'agent à traiter.
- ✓ Une innocuité pour l'abeille, n'entraînant pas une résistance.
- ✓ Une innocuité pour le manipulateur et ne contamine pas les produits de la ruche (**Colin, 2011 in Wendeling, 2012**).

Les acaricides les plus utilisés dans le monde sont à base de fluvinate [Apistan, Klarton], d'amitraz [Apivar], de fluméthrine [Bayvarol] et de coumaphose [Perizin]. Ces produits ont une activité comprise entre 50 et 99 % et dans la plupart des cas seuls les *Varroas* phorétiques sont accessibles par ces substances thérapeutiques (**Faucon et al., 2007**). Malheureusement, l'apparition de la résistance de *Varroa* a été constatée dans plusieurs pays surtout vis-à-vis du fluvinate [Apistan, Klarton]. D'autres acaricides ont l'inconvénient de laisser des résidus

importants dans les cires d'abeilles tels que le Perizin qui se retrouve dans les cires et nuit au développement des larves d'abeilles (**Bâcher, 2006**).

L'alternance des molécules accroît l'action du traitement, et actuellement il est nécessaire de faire deux traitements, le premier en fin de récolte du miel et le second en hiver ou on a un faible nombre de couvain.

### II-8.2. Lutte par traitements biologiques

Ces traitements « biologiques » ont une efficacité plus irrégulière et plus faibles que les acaricides, toutefois, leurs résidus présentent moins de nocivité pour la santé, ils permettent d'élargir la palette des traitements et de réduire l'apparition de résistance de *Varroa* (**Clément, 2011**). Ces traitements se font soit :

- Par application d'acides organiques qui sont présents naturellement dans le miel tels que : l'acide formique et l'acide oxalique (**Adjlane, 2016**).

La manipulation de ces produits nécessite beaucoup de précautions et un respect du protocole d'utilisation, car ils ont montré une toxicité pour l'Homme et pour l'abeille.

Le mode d'application de l'acide oxalique est : dégouttement, pulvérisation, évaporation ou bien par insertion de bandelettes (**Boucher, 2004**). L'application de l'acide formique se fait par insertion de bandelettes imbibées, il est conseillé en hiver car un traitement au printemps augmente la concentration de l'acide formique dans le miel (**Bogdavov et al., 2002**).

- Soit par application des huiles essentielles extraites directement des plantes comme le traitement par fumigation du Thym (**Ghomari et al., 2014**) et le traitement par la méthode « Pose des langes » en utilisant l'huile essentielle d'*Eucalyptus* seule ou mélangée à d'autres huiles essentielles (**Labeste, 2013 ; Habbi-Cherifi, 2014**).

Le thymol ayant donné les meilleurs résultats (**Imdorf et al., 1999**), plusieurs acaricides à base de thymol ont fait leur apparition et sont utilisés pour la lutte contre *Varroa*, les plus courants sont : Apilifvar, Apiguard et Thymovar

Plusieurs travaux ont été effectués par les chercheurs du monde entier notamment en Algérie, afin d'étudier l'efficacité des huiles essentielles contre *Varroa Jacobsoni* des abeilles

### II-8.3. Lutte par traitements mécaniques

La méthode de la lutte mécanique est de plus en plus utilisée, l'apiculteur peut lui même réaliser ces différentes techniques telles que :

- Equiper les ruches d'un plateau grillagé pour que les *Varroa* qui chutent au fond de la ruche restent prisonniers de ces plateaux (**Labeste, 2013, Ghomari et al., 2014**).
- Bloquer la ponte de la reine ainsi on perturbe et on interrompt la multiplication des femelles *Varroas* (**Giacomelli et al., 2016**).
- Retirer et détruire le couvain des mâles après operculation, ce qui permettra de diminuer l'infestation (**Calderone, 2005**).

- Former de jeunes nucléis par essaimage, ainsi la quantité de *Varroa* sera répartie entre deux colonies ce qui réduira le taux d'infestation (**Charriere et al., 1998 in Wendeling, 2012**).

### III- L'huile essentielle de citronnier

#### III-1. Citronnier

Le Citronnier est un espèce de petits arbres de la famille des rutacées, cultivée dans les régions méditerranéennes et subtropicales pour son fruit le Citron, dont le jus est utilisé principalement comme condiment, l'origine de l'espèce est un hybride entre cédratier et l'orange amère. Il croit en tout cas spontanément d'où il a été successivement répandu, par les arabes, dans toutes les contrées qu'ils soumièrent à leur domination. Les croisés le trouvèrent en Syrie et en Palestine vers la fin du XIe siècles et le rapportèrent en Sicile. (Praloron,1971).

Les noms communs de citron

- Arabe : el karess (Delille,2007)
- Français : citronnier (Delili,2007)
- Anglais : lemon (Teuscher et al,2005)

#### III-1.2 Différentes variétés du citron

Les variétés du citron sont très nombreuses, voici quelques-unes parmi les plus intéressantes :

##### ❖ MEYER ou (*Citrus Meyer*)

Le *Citrus Meyer* est un fruit hybride entre un citronnier et un oranger ou un mandarinier, comme l'en attestent ses couleurs en parties orangées, il est décrit comme étant plus résistant au froid que les autres variétés mais le cas n'est pas toujours vérifié, sa floraison est très abondante, les fruits ont une peau lisse et fine, ils se teintent d'orange à maturité ainsi que la pulpe, très juteux, il est moins acide que les citrons jaunes, c'est un citronnier qui peut se cultiver en pot car il reste alors de petite taille ( Polése,2008).

##### ❖ Citron de Menton

Le citron est présent à menton (Alpes-Maritimes), depuis le XV siècle jusqu'à la première guerre mondiale, cette ville fut le haut lieu européen de flambée des prix de terrain eurent raison des derniers vergers. la production existe toujours mais reste confidentielle et on trouve occasionnellement le citron de menton sur les étals en hiver principale saison pendant laquelle ce citronnier fructifie(Polése,2008).

##### ❖ Citron panaché (*Albo-variegata*)

Est très apprécié pour ses couleurs magnétiques, principalement au printemps, ses feuilles vertes sont panachées de jaune clair, et ses jeunes pousses de couleur crème sont teintées de rosé.

Les fruits sont également verts panachée de jaune de rosissent à maturité. la pulpe rosée est juteuse et peu acide. il proviendrait d'une mutation d'un citronnier Eureka (**Polèse, 2008**).

❖ *Citrus lemon. L*

Le *Citrus lemon* est un fruit issu d'une hybridation naturelle entre cédrat (*Citrus medica*), et l'orange amère (*Citrus bigaradier*).

C'est la variété la plus cultivés en bassin méditerranéen dont l'Espagne est le plus producteur et exportateur, Il parait le plus intéressant en Algérie comme fruit de 4 saisons, avec un beau fruit oblong, à base arrondie, chaire dense, fine, peu ou pas de pépins, la maturation tardive a lieu de mai à octobre (**Truet, 1940**), c'est la variété la plus disponible en marché.

### III-1.3. Description botanique du citronnier

Le citronnier est une plante médicinale importante de la famille des rutacées, originaire du bassin méditerranéen et répandu particulièrement en Italie, en Espagne, et Chypre (**Mohanpriya et al., 2013 ; Leroy, 2016**).

Ce sont des arbres ou arbustes pouvant atteindre 5 à 10m de haut, ils peuvent vivre entre 50 et 80ans. Les feuilles sont cireuses et coriaces, alternes et possèdent souvent un pétiole, de forme ovale leur limbe est entier ou irrégulièrement denté, elles sont persistantes. Le fruit est une baie, ronde ou allongée. L'écorce du fruit comprend dans sa partie la plus externe un épicarpe dénommée le zeste coloré en jaune remplis de l'huile essentielles (**Anton et Lobstein, 2005**). (Figure n°14)



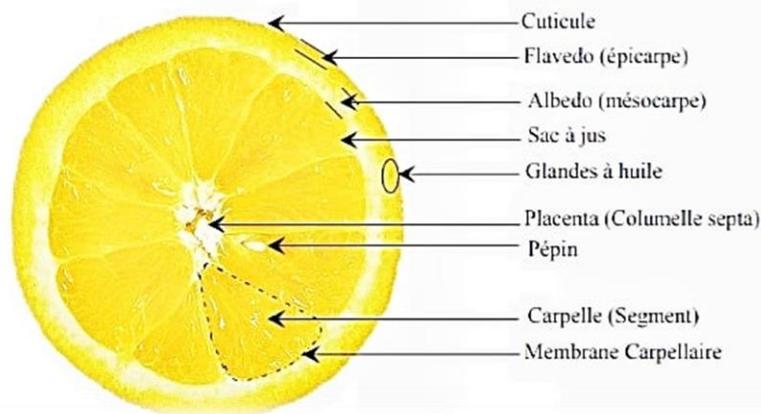
Figure N° 14 : feuilles, inflorescences et fruits de citron (**Jardiland, 2016**)

Le citron a un large spectre d'activité biologique, y compris les activités antibactérienne, antifongique, antidiabétique, anticancéreuse et antivirales (**Burt, 2004**).

### III-1.4. Structure anatomique du citron

Tous les fruits des Citrus cultivés présentent la même structure anatomique présentée sur la (Figure n° 15) (**Ramful et al., 2010**).

D'un point de vue botanique les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées : l'épicarpe (Flavédo), mésocarpe (Albédo) et l'endocarpe (pulpe).



**Figure n° 15** : Caractéristiques morphologiques d'un *Citrus* (**Duan et al., 2014**).

### III-1.5. Systématique de citron

La classification scientifique du citron est représentée dans le tableau

**Tableau 2** : systématique du citron (**Quignard,2001**)

<b>Règne</b>	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicotylédones
<b>Ordre</b>	Rutales
<b>Famille</b>	Rutaceae
<b>Genre</b>	<i>Citrus</i>
<b>Espèce</b>	<i>citrus Limonum</i>

### III-1.6. Composition biochimique du citron

Les principaux constituants chimiques du citron sont regroupés dans le tableau:

**Tableau N° 3** : Principaux constituants chimique de citron (**Goetz, 2014**).

Matière	Famille des constituants	Constituants chimiques
Jus	Flavone	Citroflavonoïdes
	Acide organiques	Acide citrique, acide malique
	Hydrate de carbone	Saccharose, glucose
	Vitamines	Vitamine C (acide ascorbique)
	Minéraux	Sodium, calcium, phosphore, zinc
Ecorce de citron	Huile essentielle	90% D-limonène (monoterpène cyclique) 0,4% $\beta$ -pinène, 9.6% $\gamma$ -terpinène

### III-1.7.- Production du citron

#### III-1.7.1- Production mondiale et algérienne

Selon l'organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture des Nations Unies les principaux pays producteurs de citron et de limes sont l'Inde, le Mexique l'Argentine et l'Espagne avec un taux de 13 millions de tonnes (**FAO, 2017**), la production de citrons obtenue en Algérie durant la saison 2011-2012 est de 760 823 tonnes (**MADRP, 2012**).

## III-2 Généralité sur les Huiles essentielles

### III-2.1 Historique

L'usage des essences et des huiles essentielles est très ancien. Plusieurs siècles avant JC, en Egypte, au moyen orient et en chine, les plantes aromatiques et les résines odorantes étaient utilisés pour les cérémonies religieuses et les soins, ils brûlaient myrte et encens pour traiter les maladies respiratoires et préconisaient des bains à cèdre et oliban pour les troubles circulatoires (**Scimeca et Tetau,2006 ; willem,2006**)

En 1931, **Gattefossé** fut le premier à démontrer les relations structure / activité des molécules aromatiques et à établir les grandes propriétés des arômes naturels comme étant antitoxiques, antiseptiques, tonifiantes, stimulantes et calmantes etc. (**Bardeau,1976**)

Durant la guerre de (1939\_1945), le **Dr. Jean Valnet** guérissait les blessures de guerre en utilisant des HE. Les notions curatives des HE ont été vulgarisées par son premier livre (**publié en 1964**) : « l'aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes »

### III-2.2 Définitions des Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont définies comme étant des produits de composition chimique assez complexe renfermant les principes volatils contenues dans les végétaux. Ces huiles sont à la fois des parfums et des remèdes naturels. **(Bruneton,1999)**

Selon **Duquenois (1979)**, il n'existe pas de définition standard pour l'huile essentielle, « la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que des botanistes, des physicochimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues ».

**AFNOR** a établi la définition suivante pour les huiles essentielles : « ce sont des produits obtenus à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques **(AFNOR ,2000)**.

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ses composés, de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante **(Anton et Lobstein,2005)**.

### III-2.3. Marché mondial des huiles essentielles

Ces dernières années, le marché mondial des huiles essentielles est en nette évolution. Quelque 3000 huiles essentielles sont connues, dont environ 300 sont d'une importance commerciale **(Bégin et al., 2000 in Bessah et al., 2015)**.

Les quantités d'huiles essentielles produites dans le monde sont très variables. La production annuelle de certaines huiles essentielles est de 35.000 tonnes, alors que celle des autres peuvent atteindre quelques kilogrammes **(Iqbal, 1993 in Bessah et al., 2015)**.

Les principaux importateurs et exportateurs en volume et en valeur sont la Chine, Hong Kong et les Etats-Unis. La Chine domine le marché des exportations avec près de 33% du marché mondial que ce soit en volume ou en valeur (période 2004-2014). Les Etats-Unis sont les premiers importateurs mondiaux avec plus de 10% du marché mondial des importations en volume ou en valeur durant la même période. De nouveaux pays émergent sur ces marchés. Ainsi, l'Egypte connaît une expansion rapide des exportations en volume et en valeur durant la moyenne des deux périodes considérées 1994-2003 et 2004-2014 avec un taux croissant annuel de 8% jusqu'à 2014. En valeur, l'Egypte prend la sixième position sur le marché mondial des exportations au cours de la période 2004-2014, en passant de 2% à 6% du marché mondial. Un autre pays tiers méditerranéen, le Maroc, gagne également des parts du marché mondial des exportations atteignant 2,5% du marché en 2014 **(Ibert et al., 2016)**.

En Algérie, en dépit de la richesse floristique et tenant compte de l'importation croissante d'huiles essentielles et d'extraits de plante, il apparaît que la filière des huiles essentielles est peu développée malgré les fortes potentialités, ce qui explique que notre pays reste absent de la scène internationale des échanges de plantes aromatiques et médicinales. **(Bessah et al., 2015, Ibert et al., 2016)**.

### III-2.4. Localisation et le rôle des HE dans la plante

Les HE sont produits dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des structures histologiques spécialisées. Elles sont alors stockées dans des cellules à HE (lauraceae), dans des poils sécréteurs (Geraniaceae), dans des poches sécrétrices (myrtaceae) ou dans des canaux excréteurs (asteraceae). (Salle,1991)

Seules les parties sécrétrices ou les plus concentrées en HE de la plante qui seront récoltées durant la période où le rendement est optimal. (Deysson,1978)

Les huiles essentielles ont quatre principaux rôles :

- Protection de la plante contre les déprédateurs (insectes) (Bakkali et al.,2008)
- Attraction des insectes pollinisateurs (Hameurlaine,2009), les apiaceae sont connus par ce fait (Djarri,2011)
- Inhibe la germination de la graine des espèces qui partagent le même espace elle peut même constituer des supports de communication par le transfert de messages biologiques sélectifs (Bruneton,2009)
- Elles ont aussi un rôle dans les échanges calorifiques dans les phénomènes capillaires (bruneton,1999)

### III-2.5. Composition chimique des HE

Jusqu'à présent, plus de 3000 constituants ont été isolés à partir des HE, ces derniers sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent à deux groupes :

- Composés terpéniques.
- Composés aromatiques dérivés du phenylpropane.

Les HE peuvent également renfermer divers produits issus de processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Croteau et al.,2000)

#### ➤ Les composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels mais de nombreux dérivés (alcools, aldéhydes, cétones, acides), de structure apparentée, sont considérés comme des composés terpéniques.

Ils sont présents, dans les végétaux, dont ils sont souvent les constituants "de senteurs" (térébenthine, camphre, menthol, Citronnelle); on les extrait sous forme d'huiles essentielles pour la parfumerie.

Certains d'entre eux ont un rôle biologique important (hormones, vitamines).

Les terpènes sont de structure cyclique ou de chaîne ouverte, leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isopréniques à 5 atomes de carbones ou plus (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), (Bruneton,1999 ; Hernandez Ochoa,2005).

#### ➤ Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénol propane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquent que les précédents. Ce sont très souvent des allyles et propenylphénols, parfois des aldéhydes (**bardeau,2009**).

### III-2.6. Propriétés des huiles essentielles

#### III-2.6.1. Propriétés physico-chimiques

D'après **Bruneton (2009)**, les principales propriétés physico-chimiques des HE sont

- Généralement liquide à température ambiante.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Leur densité est en générale inférieur à celle de l'eau.
- Leur indice de réfraction élevé.
- Sont solubles dans les solvants organiques.

#### III-2.6.2. Propriétés biologiques

Les HE possèdent de nombreuses activités biologiques (**ziming Wang et al,2005**), l'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (**Dorman et Deans,2000**)

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des HE, en particulier leurs pouvoirs antifongiques (**Nait Achour,2012**), antibactériens (**Hameurlaine,2009**) et antioxydants (**bouzouita et al,2008 ; Hussain et al,2010**)

Quelque propriété biologique seulement sont reconnues et proviennent d'un usage traditionnel validé : il s'agit des propriétés antiseptiques, stimulantes et digestives à l'intérieur et, à l'extérieur de l'organisme de l'homme, des propriétés antiseptiques et cicatrisantes et plus faiblement antalgiques.

#### III-2.6.3. Propriétés pharmacologiques

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants en proportion souvent variables, d'où la difficulté de mener des études pharmacologiques rigoureuses, quelques propriétés principales peuvent cependant être dégagées. Un grand nombre d'huiles essentielles présentent des propriétés « digestives » ou des propriétés antiseptiques, sédatives et irritantes (**Seguin et al.,2001**).

#### III-2.6.4. Propriétés thérapeutiques

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies.

Le terme aromathérapie vient du chimiste français **René-Maurice Gattefossé**, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. (**Roulier,1992**).

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisantes dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (**Kato et al,1990**), La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (**Kato et al,1990**).

Les HE du citronnier sont le fuit médicinal par excellence. En temps de grippe, les médecins grecs latins et arabes en servaient, ils le considéraient, aussi comme antidote des venins et poisons, comme un préventif des épidémies(**Babo,2006**).

### **- III-2.7. Principales utilisation des HE**

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs à savoir :

#### **➤ En industrie agroalimentaire**

L'oxydation des lipides est un problème récurrent dans les aliments parce qu'elle implique des altérations organoleptiques. Pour éviter ce phénomène, les industriels rajoutent à leur recette différents conservateurs de synthèse. Les chercheurs ont travaillé sur l'effet antioxydant des huiles essentielles extraites de plantes ou de fruits. Ils ont conclu que certaines huiles essentielles peuvent jouer un rôle essentiel pour limiter l'oxydation des lipides selon le type d'aliment et les conditions de stockage (**Fernandez et Chemat,2012**).

#### **➤ En pharmacutique**

Le lecteur découvrira plus loin les propriétés pharmacologiques de quelques huiles essentielles utilisés en thérapeutique. Ce sont principalement les propriétés antiseptiques et antifongiques qui sont reconnues par les autorités sanitaires (**kaloustian et Minaglou, 2012**). Elles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection. Elles sont utilisées dans le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité buccale et les soins dentaire (**Bekhechi et Abdelouahid,2010**).

Souvent, les huiles essentielles sont rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à la consommation (**kaloustian et Minaglou, 2012**).

#### **➤ En parfumerie**

C'est le principal débouché des HE. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont aussi consommateurs même si le cout élevé des produits naturels conduit à privilégier parfois les produits synthétiques. Elles sont intégrées dans des analgésiques, pour la peau, les produits solaires ainsi que de nombreux produits d'ambiance comme les liquides pour pot-pourris (**Couderc,2001**).

### III-2.8. Modes d'extraction

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (environ 1%) ; ce qui les rend des substances fragiles, précieuses et rares. Il existe différentes méthodes pour les extraire, le choix de la méthode la plus adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter. (Samate Abdoul, 2001).

#### III-2.8.1. Hydro distillation

L'appareil utilisé est de type Clevenger. Il est constitué d'un chauffe ballon, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et d'un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement et à l'ombre (Fadil *et al.*, 2015) (Figure n°16).

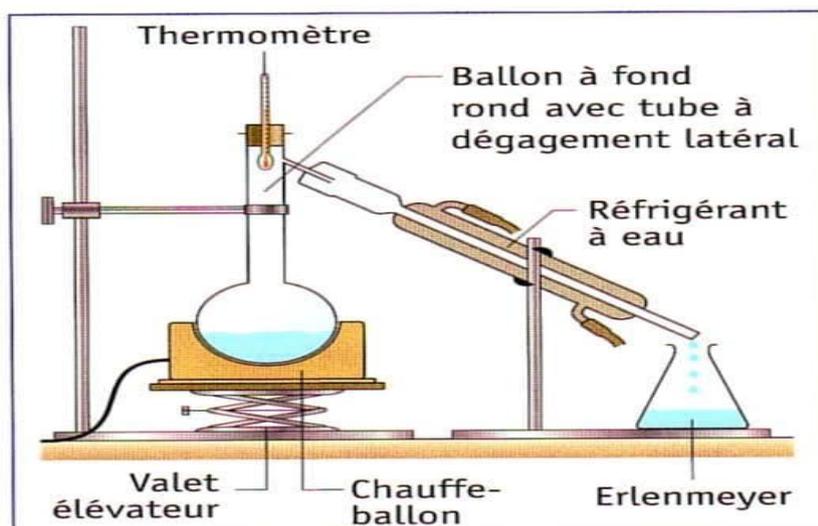


Figure n° 16 : photo d'un Clevenger (hydrodistillation) (Fadil *et al.*, 2015)

### III-2.9. Analyse des huiles essentielles

#### III-2.9.1. Analyse des caractéristiques physico-chimiques

Selon Buchbauer (2000), c'est la connaissance détaillée des constituants de l'huile essentielle qui mènera à une utilisation appropriée. Selon la pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais. Ce contrôle a pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle ; ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans le recueil de normes publié par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), qui sont identiques aux normes internationales de l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO, 1977).

La normalisation des huiles essentielles concerne :

- Les propriétés organoleptiques : couleur, aspect, odeur...
- Les caractéristiques physicochimiques : densité, indice d'acide, miscibilité dans l'éthanol...
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants

### III-2.10. Toxicité des HE

Les huiles essentielles de plantes aromatiques sont des médicaments à très fortes concentrations en principes actifs, elles n'ont pas tout à fait les mêmes indications que les plantes dont elles sont issues, et surtout elles doivent être prises avec précaution, sans jamais dépasser la dose prescrite, soit en général de deux à cinq gouttes, d'une à trois fois par jour (Ollier, 2011). De plus, une dilution dans d'autres huiles appelées bases (comme l'huile d'amande douce) est nécessaire pour diminuer la concentration des principes actifs et éviter ainsi tout trouble dermatologique ou physiologique (Ollier, 2011).

Il existe un risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive. En particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïs, sauge officinale) ou à pinocampone (hysope) : ce sont les cétones qui induisent des crises épileptiformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant parfois l'hospitalisation ; d'autres causes d'intoxications sont également observées par l'ingestion à fortes doses de camphre, menthol (risque de spasme de la glotte chez le jeune enfant). (Koziol, 2015).

### III-2.11. Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative des molécules qui composent les huiles essentielles, rend leur conservation délicate [Bruneton, 1993]. Trois facteurs interviennent dans leur altération

- **La température** : obligation de stockage à basse température (entre 4°C et 25°C).
- **La lumière** : les stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque brun de préférence.
- **L'oxygène** : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

## III.3- L'Huile essentielle du citron

Les HE de citron sont utilisées à la fin du moyen âge où les expéditions maritimes battaient leur plein, les marins étaient souvent atteints du scorbut, une carence en vitamine C.

L'huile essentielle, préparée à partir des épicarpes de *Citrus limon* est un peu moins riche en carbures mono terpéniques que celle d'orange amère (92 à 95%) et sa teneur en limonène oscille entre 60 et 75%, ce carbure monocyclique est accompagné d'environ 8 à 12 de  $\beta$ -pinène et 8 à 10% de  $\gamma$ -terpène. On note la présence d'aldéhydes aliphatiques (0,2 à 0,5%) et aldéhydes mono terpéniques 2 à 3% (Bruneton, 1999).

### III.3.1- Apports et propriétés thérapeutiques du citronnier

Le citron est le fruit médicinal par excellence. En temps de grippe, les médecins grecs. Latin et arabes en servaient, ils considéraient, aussi comme antidote de venins et poisons et comme un préventif des épidémies (**Babo,2006**).

Aujourd'hui on connaît bien toutes les qualités du citron, son suc contient de l'acide citrique, de l'acide malique, des citrates de potassium et de calcium. (25mg/100g) Contient aussi environ 8% de glucides, des matières pectiques, de mucilage, des sels minéraux, des oligoéléments et de la vitamine C (52 mg / 100g).

Le jus de citron contient essentiellement trois acides : malique, ascorbique et citrique.

(**Anton et silano,2001**), Sans oublier, les hétérosides flavonoïques exerçant une action vitaminique. Par distillation du zeste, on tire une essence très parfumée, et très antiseptique, donc le citron est considéré comme un bon antiseptique, dépuratif, et carminatif, un tonique général de l'organisme et de l'appareil digestif, l'essence de citron est notamment utile pour traiter l'hypertension, les varices, la mauvaise circulation sanguine, en usage interne. (**Santo et al., 2011; Karimi et al., 2012**).

En usage externe, il donne de très bons résultats sur les maladies inflammatoires de la bouche et de la gorge, c'est aussi un vieux cosmétique, qui adoucit la peau, les mains et tonifie les ongles fragiles, les eaux grasses. Ainsi qu'il éclaircit le teint et estompe les taches de rousseur (**Chevalier et al.2004, Delille,2007**).

En plus, il est antihémorragique, antiscorbutique, antipyrétique, et carminative. Il est utilisé aussi contre les piqures d'insectes, d'aphtes, d'angines et d'engelures (, **Bardeau ,2009**).

Le citronnier possède un effet photo toxique, après une application cutanée, il est impératif de ne pas s'exposés au soleil, bien évidemment l'application cutanés doit être faite après dilution.

## IV- *Activité biologique des Huiles essentielles*

### I V- 1 *Activité antimicrobienne*

#### IV-.1.1 *Introduction*

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles ont été reconnues depuis des siècles et avec la demande croissante de changements dans la législation, les tendances de consommation et l'isolement croissant des pathogènes résistants aux antibiotiques, alternatives aux produits chimiques des bactéricides doivent être trouvés (**Fisher et Phillips,2008**).

Les huiles essentielles sont utilisées pour leur propriété antiseptique contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne dont beaucoup de ces huiles ont des activités antibactériennes remarquables contre un large spectre (**De Biller Berck, 2007, Pirbalouti et al.,2010**). Elles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire, (**Daouda, 2015**).

Les huiles essentielles agissent selon deux modes d'action, soit bactériostatique en bloquant la multiplication des cellules bactériennes, soit bactéricide en les tuant. Il existe plusieurs tests pour la détermination de l'activité antibactérienne d'une HE. Cependant, il n'existe pas de tests standards pour pouvoir comparer entre les différentes études. Le choix de la méthode a une grande influence sur les résultats.

#### IV- 1.2 Techniques d'évaluation de l'activité antimicrobienne

##### IV- 1.2.1. Méthode de diffusion par disque

C'est une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme, aromatoگرامme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore des disques (Pibiri, 2006). Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Elle permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'huile ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries (Bouguerra *et al.*, 2014). (Figure n°17)

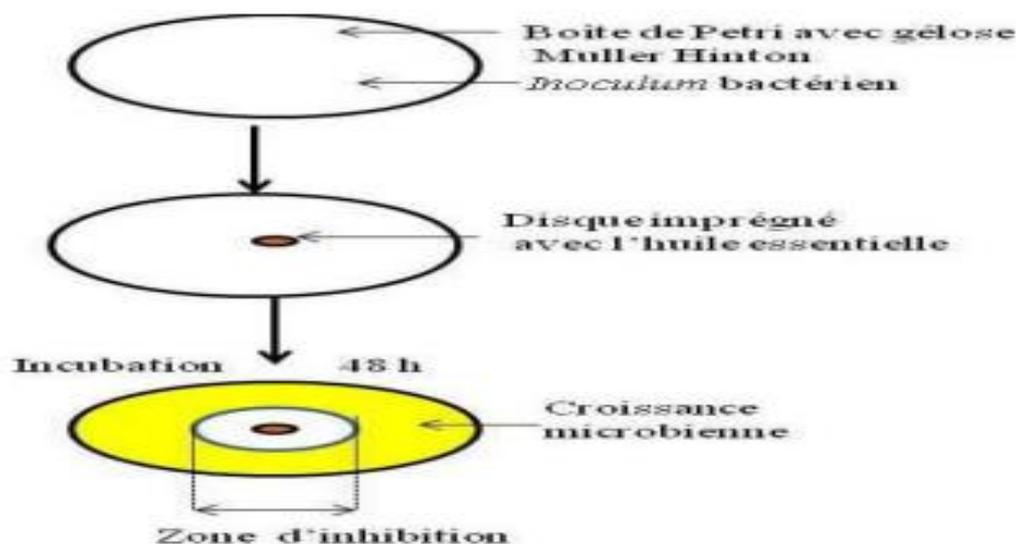


Figure n°17 : Méthode d'antibiogramme (Bouguerra *et al.*, 2014).

##### IV- 1.2.2. Micro-atmosphère

C'est une technique dérivée de la méthode précédente. Le protocole des Micro atmosphère est techniquement proche de celle des aromatoگرامmes, la différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (Pibiri, 2005).

#### IV- 1.2.3 Méthode de dilution

La méthode de dilution consiste à faire une série de dilution d'une gamme de concentration en huile essentielle à laquelle une suspension bactérienne est inoculée. Le but est de déterminer la concentration la plus faible de l'HE qui inhibe la croissance de la bactérie testée exprimée en  $\mu\text{L/ml}$  ou  $\text{mg/ml}$ . Cette technique est utilisée pour les bactéries qui ont présenté une sensibilité aux HE par les méthodes de diffusion. (Figure 18)

#### IV- 1.2.4. Détermination des CMI et CMB

La CMI par définition correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne (**Burt, 2004**) (Figure 18).

La technique consiste à introduire l'inoculum dans une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. L'ensemble des tubes inoculés est incubé à la température optimale de la croissance du germe pendant 24h à 48 h. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI de l'HE qui est le premier tube dépourvu de croissance bactérienne. Différentes techniques de dilution sont utilisées pour la détermination de la CMI, à savoir la macro dilution en milieu liquide (**Singh, Shushni, et Belkheir, 2011**).

La CMI n'est pas totalement bactéricide, une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci a amené à définir un autre paramètre : la concentration minimale bactéricide (CMB).

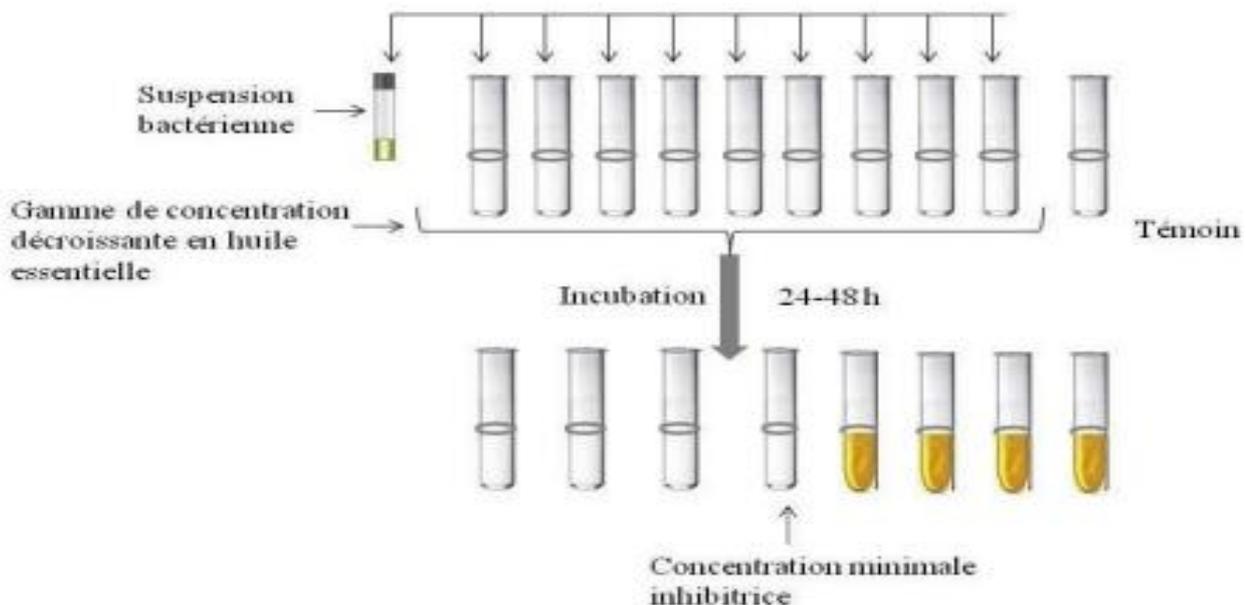


Figure n°18 : Méthode de la détermination des CMI en milieu liquide (**Burt et al.,2007**)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la concentration en HE nécessaire à laquelle l'action bactéricide est totale. Elle est rapportée comme étant la plus faible concentration où aucune croissance n'est observée après repiquage en milieu nutritif frais (**Singh et al., 2011**) ou bien la concentration capable d'engendrer 99,9% de mortalité des cellules bactériennes initiales (**Ponce et al., 2005**). Le test de la CMB succède directement au test de la CMI. En fait, la même gamme de concentration réalisée par la technique de dilution par la CMI est utilisée pour déterminer la CMB de l'huile essentielle à tester. La méthode consiste à faire des prélèvements des cultures n'ayant pas donné de développement bactérien (résultat du test de la CMI) sur un milieu de culture neuf. Puis, les gélosesensemencées sont incubées à la température optimale du germe pendant 24 à 48 h. Après incubation, la CMB est considérée comme étant la concentration minimale en HE pour laquelle aucun développement bactérien n'est observé.

## 1- Objectifs du travail

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet acaricide de l'huile essentielle du citronnier (*Citrus lemon*), sur le *Varroa Jacobsoni* le parasite de l'abeille *Apis mellifera* intermissa par l'estimation de la mortalité provoquée par la dose de (0.25%) et savoir si la dose est efficace pour neutraliser ce parasite afin de protéger l'abeille.

## 2. Présentation de site

Notre étude a été réalisée au niveau de la station expérimentale du département des biotechnologies, Facultés des sciences de la nature 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 les amandiers (Figure n°19)



**Figure n° 19 : le site de travail (station expérimentale)**

### 2.1. -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.

## 3. Matériel biologique

### 3.1-matériel végétal

Le matériel végétal choisi dans la présente étude est représenté par les écorces (zestes) du citron (*Citrus limon*). Une quantité de 8 kg utilisés est achetée au niveau du marché local de Blida, au mois de décembre 2019. (Figure n°20)



Figure n°20 : citron jaune (*Citrus lemon*) (photo personnelle ,2019)

### 3.2- matériel animal

#### 3.2.1 les abeilles (espèce hôte de l'acarien)

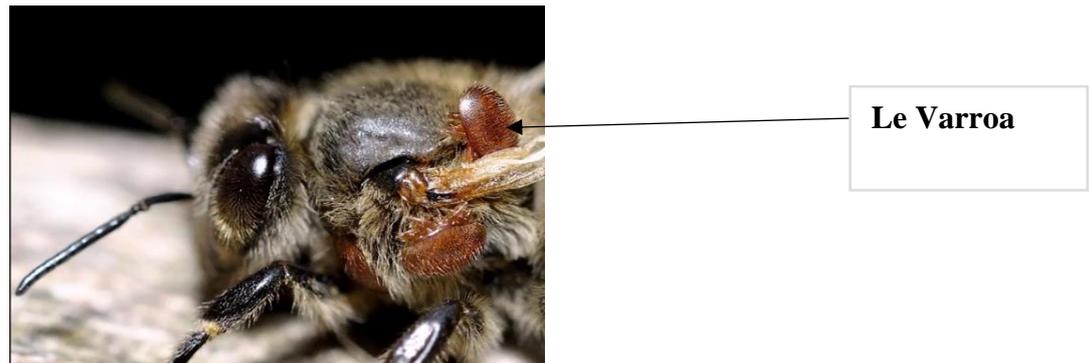
Nous avons utilisé dans notre étude les abeilles qui appartiennent à l'espèce d'*Apis mellifera intermissa* (Figure n°21)



Figure n° 21 : présentation de la colonie d'*Apis mellifera intermissa*

#### 3.2.2-Le parasite

L'acarien ectoparasite de l'abeille *Apis mellifera* est le *Varroa jacobsoni* qui provoque la varroase. (Figure n°22)



**Figure n°22 :** abeille infestées par le Varroa

#### 4. Matériel non biologique

##### 4.1 matériel apicole

###### a. les ruches

10 ruches disposés en ligne à coté de verger d'agrumes du département des biotechnologies (Figure n°23)



**Figure n°23 :** Disposition de rucher (photo personnelle,2020)

#### 5.Méthodes

##### 5.1.1 préparation de la matière première

- ✓ Laver soigneusement le citron, afin d'éliminer aux mieux les produits de conservation généralement pulvérisés des agrumes.
- ✓ Les éplucher en évitant de prendre la partie interne blanche de la peau. (Figure n°24)



**Figure n°24** : les écorces de citron (photo personnelle,2020)

### 5.1.2 Extraction de l'huile essentielle du citron

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger (Figure n°25)

#### 5.1.2.1-Hydrodistillation

Cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition pendant 3 heures, l'eau se vaporise. Cette vapeur casse les cellules végétales, libérant les molécules d'intérêt. Les plus volatiles d'entre elles sont emportées avec la vapeur.

Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensées à l'aide d'un réfrigérant. Le distillant est ensuite récupéré dans un erlenmeyer (**Fackari et al., 2005**)

L'eau et molécule aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique. (**Lucchesi,2005**).

#### a. Mode opératoire (refait deux fois)

Validé dans laboratoire d'amélioration des plantes de département des biotechnologies, Université Saad Dahleb, Blida.

- ❖ Mettre 400g des épluches de citron dans un ballon monocol d'un litre puis verser 2/3 d'eau distillée
- ❖ Placer sur le ballon un tube coudé et un réfrigérant à eau.
- ❖ Porter l'ensemble à ébullition pendant 2 heures grâce à un chauffe ballon
- ❖ Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis sont récupérées par la méthode de décantation en utilisant une ampoule à décanter.



**Figure 25** : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger (photo personnelle, 2020)

### **b. Conservation de l'HE obtenue**

La conservation de l'HE exige certaines précautions indispensables (Burt, 2004), il faut la conserver à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

### **c. Rendement d'extraction**

Selon la norme AFNOR, le rendement des huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielles (MHE) obtenu après extraction et la masse de la matière végétale (MV) utilisée. il est donné par la formule suivante : (Bouguerra *et al.*, 2014).

$$\text{RHE}\% = (\text{MHE}/\text{MV}) \times 100$$

RHE : rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

MHE : masse de l'huile essentielle extraite en gramme.

### **d.1 Préparation de la dilution des huiles essentielles**

Les concentrations préparées pour l'huile de Citronnier s'est déroulée au niveau de laboratoire de biotechnologies des productions végétales, département des biotechnologies, Faculté SNV, Blida I.

#### **d.1.1 Mode opératoire**

- ✓ Mettre la balance en 0.00g et pesé 5g de tween 80 dans le bécher
- ✓ Ajouter un peu de l'eau distillée puis les mettre dans la fiole jaugée de 500 ml
- ✓ Compléter à remplir la fiole jusqu'à l'indice 500ml
- ✓ À l'aide d'une baguette en verre mélanger le tween avec l'eau
- ✓ Fermer la fiole et faire des mouvements circulaires et agiter délicatement jusqu'à l'obtention d'une solution homogène de tween 80 à 1%

**d.1.2. Préparation de la dose**

Préparation de solution à 0.25%

- ✓ Préparer un volume de 100 ml de solution mère et mélanger avec 25% de HE successivement dans une fiole jaugée de 100ml
- ✓ Faire un mouvement circulaire et agiter délicatement jusqu'à la solution sera homogène
- ✓ Le mélange est conservé dans un flacon en verre

**E-Tests de toxicité**

Ensuite, nous avons réalisé un test de toxicité pour savoir si la dose préparé est efficace pour neutraliser ce parasite afin de protéger l'abeille.

**Méthode**

- ✓ Couper un morceau de papier mouchoir et le mettre au fond de la boite pétrie
- ✓ Mettre 1ml de HE puis ajouter les abeilles dans la boite
- ✓ Laisser les 10 minutes et vérifier si les abeilles meurent.

**6. Etude de la mortalité du *Varroa Jacobsoni***

**Objectif :** L'étude de l'efficacité de HE de *Citrus lemon* sur les acariens de *Varroa jacobsoni*

**Mode opératoire (labeste,2013)**

- ✓ Nous avons préparé des lanières en papier buvard de 18cm de long et de 5 cm de largeur
- ✓ Laver les plaques de 20cm\*20cm avec de l'eau pour éliminer tous traces de saleté
- ✓ Prendre un peu de graisse et la bien chauffé au paume des mains
- ✓ Glisser les paumes des mains graissées sur toute la surface des plaques surtout aux extrémités
- ✓ Coller les bandes de papier buvard parallèlement
- ✓ Mettre la dose de 1ml de solution 0.25% HE de *Citrus lemon* sur chaque bande avec une seringue
- ✓ Mettre les plaques au fond de la ruche délicatement et remettre le trou de vol (Figure 26)
- ✓ Laisser l'huile se vaporiser et récupérer les plaques après 7 jours du début de l'expérimentation
- ✓ Compter le nombre des acariens de *Varroa jacobsoni*



**Figure n°26 :** un lange de traitement placé en dessous d'un plancher grillagé (photo personnelle,2020)

**I- 1 évaluation de rendement des huiles essentielles**

L'extraction par hydrodistillation de 800g de l'écorce de citron *Citrus lemon* a donné une quantité de 4.5g d'HE avec laquelle nous avons calculé le rendement qui est de 0.6%

**I- 2 test de toxicité des HE de *Citrus lemon* sur l'abeille**

Nous avons mix quatre (4) abeilles dans un flacon en verre avec 1ml d'HE a concentration 0.25% déposés sur la face interne au fond de le flacon qui est recouvert par la suite avec un morceau de papier mouchoir, Après 10 minute d'observation, nous avons remarqué que les abeilles n'ont présentent aucune anomalie physique ou comportementale, ce teste montre la toxicité du HE pour les abeilles domestiques à cette concentration.

**I- 3 étude de la mortalité de *Varroa Jacobsoni***

Nous avons utilisé une méthode largement répandue, elle présente l'avantage de ne pas nécessiter l'ouverture de la ruche pour faire l'évaluation de l'infestation des colonies. Elle consiste au placement d'un plancher grillagé à maille de trois millimètre sous la ruche, avec un plateau (lange) de comptage disposé en dessous, qui sera graissé afin d'éviter aux varroas vivants de remonter vers les abeilles. (Labeste,2013)

Les varroas morts qui tombent au fond de la ruche se retrouvent ainsi sur le lange. Il suffit de compter le nombre de varroas présents sur le plateau, pour estimer le taux d'infestation de chaque colonie étudiée, exprimée le plus souvent en nombre de varroas par jour. (Labest,2013)

**I-4 comparaison entre l'HE de *Citrus lemon* de résultats l'année 2019/2020 et les résultats de l'année 2016/2017****I-4.1 évaluation de la mortalité de Varroas traité par l'HE de *Citrus lemon* de l'année 2019/2020**

Le tableau suivant montre l'évaluation de la mortalité de varroas de la ruche 3 traitée par l'huile de citron à la concentration 0.25%.

**Tableau N° 4 :** Evaluation de la mortalité de varroas de la ruche 3 traitée par l'huile de citron à la concentration 0.25%.

Date	Nombre de <i>Varroa jacobsoni</i> au ruche numéro 3 ; 0.25% HE
08/03/2020	167

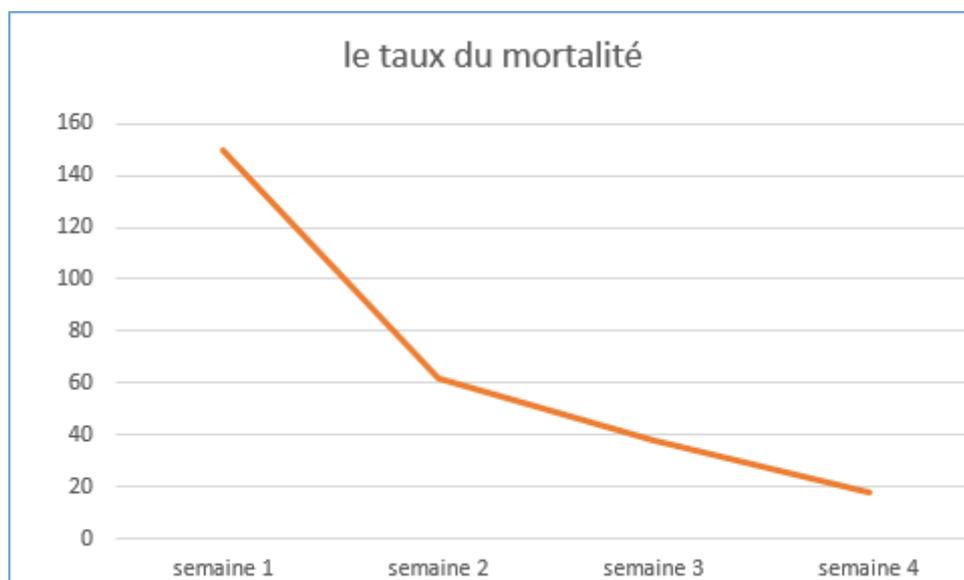
Le tableau montre que nous avons une chute considérable de varroas durant les sept 1<sup>ers</sup> jours qui, ont suivi la 1<sup>ère</sup> application de traitement.

#### I-4.2 évaluation de la mortalité de Varroas traité par l'HE de *Citrus lemon* de l'année 2016/2017

Ce tableau montre l'évaluation de la mortalité de Varroas de la ruche 4 traitée par l'huile de citron à la concentration 0.25%

**Tableau n°5 :** Evaluation de la mortalité de varroas de la ruche 4 traitée par l'huile de citron à la concentration 0.25%

	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4
<b>Ruche 4</b>	<b>150</b>	<b>62</b>	<b>38</b>	<b>18</b>



**Figure n° 27 :** graphe représente le taux de la mortalité des Varroas dans le rucher 4

Le tableau et la figure n°27 montrent que nous avons une chute considérable de varroas durant les sept 1<sup>ers</sup> jours qui, ont suivi la 1<sup>ère</sup> application de traitement, une augmentation de la chute de ces acariens à partir de la 2<sup>ème</sup> semaine est observée après la 2<sup>ème</sup> application. Les comptages suivants ont révélé une baisse très progressive de varroas notamment à partir la 3<sup>ème</sup> semaine pour la ruche 4. L'effet acaricide le plus remarquable est observé après le premier traitement.

**I-5 Comparaison entre les deux**

Selon les tableaux 1 et 2, En comparant le résultat de la 1ère semaine de la ruche 3 et 1ère semaine de la ruche 4, on remarque que les résultats sont presque identiques et la mortalité de Varroa est importante donc la concentration 0.25% a montré une activité acaricide, et cette dose présente un taux de mortalité élève.

**II- Discussion**

Les abeilles domestiques (*Apis mellifera*) sont apparues il y a 2 millions d'années et depuis, elles sont classées parmi les principaux insectes pollinisatrices car elles participent à la reproduction de plus de la moitié des espèces de plantes à fleurs. L'impact de sa disparition serait désastreux pour l'agriculture et la biodiversité, malgré que l'abeille possède des moyens de défense bien développées, elle est soumise durant toute sa vie à de nombreux stress environnementaux, multiples ennemis et agents pathogènes qui menacent son extinction.

Parmi les agents pathogènes les plus dangereux qui causent non seulement des dégâts néfastes sur l'abeille mais présente aussi un facteur des risques pour toutes les autres maladies est le Varroa. Ce petit acarien suce l'hémolymphe de l'abeille et lui transmet à l'occasion potentiellement plus d'une vingtaine de virus plus ou moins problématique.

Depuis son arrivée en Algérie en 1980, différents moyens de lutte ont été utilisés par les apiculteurs, par des produits à base des molécules chimiques (fluvinate, amitraz ....) ou des acides bio (acide formique ou oxalique), ces traitements sont déconseillés car ils laissent des résidus dans la cire de l'abeille et leurs efficacité ne dure que pour une saison parce que l'acarien développe rapidement une résistance contre eux, les solutions dans ce sens existent soit via la méthode biologiques (huiles essentielles) à base des plantes aromatiques, soit via les méthodes mécaniques.

Les Huiles essentielles sont des produits obtenus à partir de matières végétales, qui sont extraites par des méthodes diverses pour une utilisation ultérieure dans plusieurs domaines. Ces dernières années, le marché mondial connaît une nette évolution, environ 3000 HE sont connus dont 300 sont d'une importance commerciale, permet les principaux importateurs et exportateurs en volume et en valeur sont la Chine avec près de 33%, Hong Kong, les États-Unis, l'Égypte en sixième position et le Maroc tandis que l'Algérie, malgré la diversité naturelle et la richesse floristique mais le secteur des huiles essentielles, est encore très pauvre, donc nous constatons qu'il est très important de développer ce secteur :en améliorant l'agriculture et en encourageant les biotechnologues à extraire les huiles par des moyens mécaniques et en évitant les méthodes chimiques qui les dépouillent de leurs propriétés et de leur qualité, en développant des nouvelles méthodes d'extraction et d'acquisition des huiles plus facile et avec des prix abordables pour que les apiculteurs puissent les extraire et les utilisées afin de protéger et sauver les abeilles.

Dans notre travail, On a choisi la plante de *Citrus lemon* :

L'essence de citron possède d'excellentes propriétés antioxydants, anti-infectieuses, antiseptiques, et antibactériennes en particulier contre les streptocoques et les bactéries sporulées(**Willem,2002**); elle est aussi utile comme antivirale grâce à sa capacité à stimuler les globules blancs (leucocytes) qui protègent des infections ; elle est un tonique digestif, dépuratif, et carminatif.

L'huile essentielle de citron a été extraite à partir des écorces de citron par la méthode d'hydrodistillation, cette dernière nous a permis de récupérer un rendement en huile essentielle de 0.6%.

Notre résultat du traitement anti acarien a révélé une forte activité acaricide de l'huile essentielle de *citrus lemon*. Sur le *Varroa jacobsoni* parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Ce résultat est très proche de celui de **Geudjal et Ghemmal, (2017)** qui ont obtenu la mortalité de 150 varroas dans les 1<sup>er</sup> 7jours.

Selon **Mekademi, (2018)**, après le traitement Anti-Varroa, l'effet acaricide de l'huile essentielle de *Citrus lemon* est remarqué par un taux de mortalité meilleur par la dose D1 : 0.25 % qui correspond à 32.56%.

### Conclusion et perspectives

L'Algérie, par sa position géographique possède une biodiversité exceptionnelle et une richesse importante en plantes aromatiques et médicinales.

Depuis longtemps, la lutte contre la varroase est basée sur l'utilisation des synthèses, l'usage de ces molécules chimiques à causer des problèmes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'effet acaricide de *Citrus lemon* afin de les valoriser en lutte biologique.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure que :

Les traitements effectués montrent un effet acaricide de l'huile essentielle de *Citrus lemon* qui a donné 167 varroas morte dans les 7<sup>1er</sup> jours par la dose 0.25%.

Le traitement à base d'huile essentielle de citron s'est révélé efficace dans nos conditions d'expérimentation et sans effet néfaste sur le développement des colonies et mérite d'être proposé comme un bio acaricide contre la varroase (**Mekademi,2018**), car il est un traitement naturel, simple et sans inconvénients.

Enfin de compte la varroase est désormais un problème d'ordre mondial c'est pourquoi la lutte contre ce fléau doit être prise au sérieux par les pouvoirs publics, par les apiculteurs et par les chercheurs. Elle doit faire l'objet d'un vaste programme d'action territorial afin d'éviter les perpétuelles infestations, et de sauver ainsi notre sentinelle de l'environnement : l'abeille domestique.

Afin de réduire les maladies et autres dangers que le Varroa cause aux abeilles, il est indispensable de prendre certaines précautions (**préparées par l'ingénieur Qasim Al Bushi,2010**) :

- La nutrition doit être interne par l'utilisation du sucre propre et de l'eau propre ou du miel fiable.
- L'utilisation de l'eau potable propre pour les abeilles et peut être stérilisée avec une solution de permanganate de potassium (1 g / L).
- Lors de l'achat d'abeilles localement, nous devons vérifier qu'il n'y a pas d'infection
- Les reines étrangères ne doivent pas être saisies au hasard. Au contraire, elles doivent être officiellement inscrites avec un certificat d'origine prouvant qu'elles sont exemptes de parasites du pays d'origine
- Éliminez les cellules faibles, les malades et maintenez l'équilibre dissous.
- Ne pas transférer le couvain ou le miel d'une cellule infectée vers des cellules saines.
- Aucun cadre ciré inséré ou source inconnue.
- Placement des ruchers dans des groupes ne dépassant pas 75 cellules jusqu'à ce que nous débarrassions du phénomène des abeilles errantes.
- Labourer l'endroit où placer les abeilles et enlever les mauvaises herbes avant le débarquement des abeilles.

- Lavage permanent des vêtements apicoles et stérilisation continue des outils et non prêtés et empruntés.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **AFNOR, 2000** : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles
- ❖ **Adam F.(1985)**– Les croisements de l'apiculture de demain – Ed : Syndicat national apiculture.
- ❖ **Abdelhalim M I, Helmy AG, Ayman AO.** Combating honey bee *Varroa* mites by plants oils alone or in an IPM programme. The 2nd conference of farm integrated pest management.Fac Agric Fayoum Univ; 2006:172-85
- ❖ **Abdelwahab TE, Ebadah MA, Zidan EW.** Evaluation of some volatile plant oils and maurik against *Varroa Jacobsoni* in honey bee colonies. J of Appl Sci Res. 2006 ; 2(8):514-21.
- ❖ **Abu Bakar M, Anjum Aqueel M, Muhammad Raza AB, Ullah MI, Arshad M, Sohail M, et al.** Evaluation of Few Essential Oils for the Management of Parasitic Bee Mites, *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* L. Colonies. Pakistan. J. Zool. 2017.
- ❖ **Ahmim M.** Nature et biodiversité Algérienne. Algérie, 2008.
- ❖ **AKIMOV IA, HÄNEL G, ROMANOVSKIJ IA, YASTREBTSOV AV (1986a).** Le système nerveux de l'acarien *Varroa jacobsoni* (Parasitiformes, Varroidae), parasite de l'abeille mellifère. II. Les centres neurosécréteurs du synganglion. *Vestn. Zool.*, **3**, 66-71.
- ❖ **AKIMOV IA, ZALOZNAYA LM, PILETSKAYA IV (1986b).** Arrhénotokie et différenciation du sexe dans la ponte de l'acarien *Varroa jacobsoni*. *Vestn. Zool.*, **4**, 64-68.
- ❖ **ALICE M., 2013**-Action sanitaire en production apicole : Gestion de la varroase face à l'apparition de résistance aux traitements chez *Varroa jacobsoni*. Thèse présentée à l'Université Clade-Bernard-Lyon1.P16-89.
- ❖ **ALIPPI AM, ALBO GN, MARCANGELI J, LENIZ D, NORIEGA A (1995).** The mite *Varroa jacobsoni* does not transmit American foulbrood from infected to healthy colonies.*Exp. Appl. Acarol.*, **19**, 607-613.
- ❖ **ANDERSON D.L et TRUMAN W.H.,2000**- *Varroa jacobsoni* (Acari: varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.* **24** : P165-89.
- ❖ **ADJLANE N.,2012**-Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie, Thèse de doctorat en science agronomique. p 24-29.
- ❖ **Anton R. Silano V.,2001** : plants in cosmetics, volume II, Édition conseil de l'Europe, Allemagne, page 41,42,43
- ❖ **Anton, R., Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec et Doc*, Paris, pp 522.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **ALICE M., 2013**-Action sanitaire en production apicole : Gestion de la varroase face à l'apparition de résistance aux traitements chez *Varroa jacobsoni*. Thèse présentée à l'Université Clade-Bernard-Lyon1.P16-89.
- ❖ **Babo D.,2006** : Encyclopédie des fruits, édition des Iris, Paris, pages 59,60.
- ❖ **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M., 2008**.biological effects of essential oils. A review, Food and chemical toxicology, 46,446,475
- ❖ **Bardeau F.,1976**, la médecine par les fleurs, édition Masson, paris, pp100-120.
- ❖ **Baldensperger PJ.** Sur l'apiculture en Orient. Proceeding of the Sixth International Congress of Apiculture. Marseille, France; 1924.
- ❖ **Barour C, Tahar A, Baylac M.** Forewing shape variation in Algerian honey bee populations of *Apis mellifera* Intermissa (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae): A landmark based geometric morphometrics analysis. Afr Entomol. 2011; 19(1): 11-22.
- ❖ **Bekhechi, C., Abdelouahid, D. (2010)**. Les huiles essentielles, office des publications universitaires, Edition 1. 04.5145.
- ❖ **Beecher, G.R., 2003**. Overview of Dietary Flavonoïdes: Nomenclature, Occurrence and In take. American Society for Nutritional Sciences 133 (10), 3248-3254.
- ❖ **BELAID M,2011**- Effet du parasitisme par *Varroa Jacobsoni* sur les paramètres morphologiques et physiologiques de l'abeilles ouvrière, *Apis mellifera L*, dans la région médio-septentrionale d'Algérie. Thèse de doctorant en science agronomique. INRA El Harrach.19p.
- ❖ **Bernard 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.
- ❖ **Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuno, A., Del-Rio, J.A., 1997**. Uses and proprieties of Citrus flavonoïdes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45, 4505-4515.
- ❖ **BHATTACHARJEE P., RANGANATHAN T.V., SINGHAL R.S. et KULKARNI P.R.,2003** : Comparative aroma profiles using supercritical carbon dioxide and Likens-Nickerson extraction from a commercial brand of Basmati rice. J. Sci. Food Agric., 2003, Vol. 83, pp : 880 – 883.
- ❖ **Bessah R et Ben Youssef EL.** La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Rev Energ Renouv. 2015 ; 18 (3) :513 - 28.
- ❖ **Biri M. (2010)**. Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Edition deVecchi, Paris, 13-101
- ❖ **Boufflers B.,2005** : soins naturels des dents, édition Equilibre, France, page 50,51.
- ❖ **Bougerra, A., Himed, L., Barkat, M. (2014)**. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des écorces de *citrus reticulata*. Société algérienne de nutrition. P 8.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Brabançon JM. (2006).** soigner et protéger les abeilles. In traité rustica de l'apiculture. Editions rustica, Paris. pp.ou :86-109
  
- ❖ **Brown, M.J.F., Baer, B., 2005.** The evolutionary significance of long copulation duration in bumble bees. *Apidologie* 36, 157–167
  
- ❖ **Bouyahya · Y. Bakri · A. Et-Touys · A. Talbaoui · A. Khouchlaa · S. Charfi · J. Abrini · N. Dakka 2017,** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, Lavoisier SAS 2017, Phytothérapie DOI 10.1007/s10298-017-1118-z
  
- ❖ **Bouzouita N., kahouri F, ben Halima M et chaabouni M, 2008,** composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *juniperus phoenicea*, journal de la société chimique de Tunisie vol 10, pp 119-125.
  
- ❖ **BOOT WJ, CALIS JNM, BEETSMA J (1995).** Does time spent on adult bees affect reproductive success of Varroa mites? *Entomol. Exp. Appl.*, **75**, 1-7.
  
- ❖ **BOOT WJ, SCHOENMAKER J, CALIS JNM, BEETSMA J (1995).** Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, **26**, 109-118.
  
- ❖ **Bruneton, j. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition, paris techniques et documentation, Lavoisier, pp406-410
  
- ❖ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Edition, Ed. *Tec et Doc*. Lavoisier, Paris
  
- ❖ **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>ème</sup> Edition. Ed. *Tec et Doc*, Lavoisier, Paris
  
- ❖ **BOWEN-WALKER PL, MARTIN SJ, GUNN A (1999).** The transmission of deformed wing virus between honey bees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud.. *J. Invertebr. Pathol.*, **73**, 101-106.
  
- ❖ **Burt, S. (2004).** Essential oil, their antibacterial properties and potential application in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223- 253.
  
- ❖ **Calderone et al., 1997.** Evaluation of botanical essential oils for control of the honey-bee tracheal mite, *Acarapis woodi*. *Am. Bee J.* 131:589-591.
  
- ❖ **Chaabi M ; 2003** étude phytochimique et activité antimicrobienne de *larabicum schweinf* ex : bois, thèse de magister, université mentouri, Constantine, Algérie.
  
- ❖ **Cavalli J-F., 2002.** Caractérisation par CPG/IK, CPG / SM et RMN du carbone-13 des huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat de chimie organique et analytique. Université de Corse Pascal Paoli, Faculté des Sciences et Techniques, Corte, 274. France.
  
- ❖ **Chemat, F., Lucchessi, M, E. (2005).** Extraction assistée par microonde des huiles essentielles et des extraits aromatique, *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 020 ; 77-99.
  
- ❖ **Chevalier L. et gouzet-segarra C., 2004 :** Médicaments à base de plante, 2<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris, page 227.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **CHARRIERE J –D et IMDORF A (2003)**-Méthodes de lutt alternative contre le varroa, Centre Suisse de recherche apicoles, Station de recherche laitières, liebefeld, CH-3003,Berne. p 14-68
  
- ❖ **Chauzat MP, Carpentier P, Madec F, Bougeard S, Congoule N, Drajnude P, et al.** The role of infectious agents in parasites in the health of honeybee colonies in France. J of Apicul Res and Bee World. 2010; 49(1): 30-39.
  
- ❖ **COLIN M.E ,1983**-La varroase. REV.SCI.TECH.INT.EPIZ.1(4) ,1177-1189. (Article D6884).
  
- ❖ **Colin E et al ., 1983** :Etude du premiere foyer français de Varroatose de l'abeille .bull .acad.vet.De France 56 :p89-93.
  
- ❖ **Colin. E et Vandame. R ., 2003** :Abeilles européennes et abeilles africainisées au Mexique :la tolérance au *Varroa jacobsoni* I.N.R.A. STATION DE ZOOLOGIE ET APIDOLOGIE
  
- ❖ **Conte Y. (2011).** Mieux connaitre l'abeille. la vie sociale de la colonie. In : Bruneau.E ; Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B. Le traité rustica de l'apiculture. Ed. Rustica. Paris. Pp.527. 12-83p
  
- ❖ **Cornet JM, Daoudi A, Moshine EH, Fresnaye J.** Etude biométrique de populations d'abeilles marocaines. Apidol. 1998 ; 19 : 355-66.
  
- ❖ **Couderc, V. L. (2001).** Toxicité des huiles essentielles, thèse doctorat. Ecole national vétérinaire, Tou 3-4106.
  
- ❖ **Conte Y. (2011).** Mieux connaitre l'abeille. la vie sociale de la colonie. In : Bruneau.E ; Barbançon J.-M ; Bonnaffé P. Clément H ; Domerego. R ; Fert G ; Le Conte. Y ; Ratia .G ; Reeb. C ; Vaissière. B. Le traité rustica de l'apiculture. Ed. Rustica. Paris. Pp.527. 12-83p
  
- ❖ **CROUZET J., 1998** : Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur F 4 100, pp : 1 – 18.
  
- ❖ **Croteau R., kutchan T.M et Lewis N, G., 2000.** Natural products. Secondary metabolites, biochemeistry and molecular biology of plants, American society of plant phytothérapie Européenne, pp 17-20.
  
- ❖ **Charpentier G, 2013-**. Étude des effets létaux et sublétaux d'une intoxication au thymol sur le développement et l'immunité des larves d'*Apis mellifera* élevées *in vitro*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse. P24-40.
  
- ❖ **Mekademi Djamila et al ,2019**, International Journal of Biological Sciences and Research| IJBSR |, EFFECTS OF DIFFERENT ACARICIDE TREATMENTS AGAINST VARROA JACOBSON, ART, Vol. 2, No. 1, p. 1-17, 2019
  
- ❖ **Davidson P.M., Parish M.E., 1989.** Methods for testing the efficacy of food Antimicrobial. *Food Technology*, 43, 148-155.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Daouda, T, (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatique médicinales de côte d'ivoire. Thèse doctorat, université Felix hoaphou et bioghy en biologie humaine tropicale.
- ❖ **Dacosta, E., 2003.** Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta, Paris. Pp : 317 322.
- ❖ **Delille L.,2007 :** les plantes Médicinales d'Algérie, édition Berti, Alger, page89.
- ❖ **Di-Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F., 1999.** Flavonoïdes: Old and New Aspects of a class of Natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65 (4), 337-353.
- ❖ **DIEMER, I. BEES AND BEEKEEPING, MEREHURST PRESS LONDON, 1988.** ISBN: 1-85391-007-4.
- ❖ **Djarri L, 2011 :** contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algérienne de la famille des Apiaceae *Daucus reboudii coss*, thèse de doctorat, université mentouri de Constantine.
- ❖ **DONZÉ G, SCHNYDER-CANDRIAN S, BOGDANOV S, DIEHL PA, GUERIN PM, KILCHENMAN V, MONACHON F (1998c).** Aliphatic alcohols and aldehydes of the honey bee cocoon induce arrestment behavior in *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasite of *Apis mellifera*. *Insect Bioch. and Physiol.*, **37**, 129-145
- ❖ **Dorman H.J.D and Deans S.G.,2000.** Anti microbial agents from plants : anti bactériale activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology.*88-2 :308-316.
- ❖ **Duquenois P., 1979.** Les médicaments aromatiques, leurs caractères, leurs contrôle les actualités pharmaceutiques, 2ème édition, 154p.pp17-20
- ❖ **DUARTE C., MOLDAO-MARTINS M., GOUVEIA A.F., BEIRAO DA COSTA S., LEITAO A.E. et BERNARDO-GIL M.G., 2004 :** Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). *J. Supercrit. Fluids*, 2004, vol., 30, pp : 155 – 161.
- ❖ **FAUCON J-P et CHAUZAL M-P , 2008.** Varroase et autres maladies des abeilles : causes majeurs de mortalité des colonies en France. P 258-262.
- ❖ **FAUCON J-P, DRAJNUDEL P., CHAUZAT M.P et AUBERT M.,2007-** Le contrôle de l'efficacité de médicament APIVARD ND contre le *Varroa Jacobsoni*, parasite de l'abeille domestique. *Revue Méd.Vét .n°158 (6) :283-290.*
- ❖ **FAUCON , 1992** -Précis de pathologie, connaitre et traité les maladies des abeilles.Edition.FNOSAD, P 512-513.
- ❖ **FAO. (2013).** Food and agriculture organisation of the United nation. Perspective à moyen terme pour les produits agricoles.
- ❖ **Fadil, M., Farah, A., Ihssan, B., Halouni, T., Rachiq, S. (2015).** Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse.*J. Mater. Environ. Sci.*6 (8)2346-2357. P 12.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles tradition et innovation. Ed Vuibert, Paris.
- ❖ **Fernandez N., Coineau Y. 2002.** Varroa, tueurs d'abeilles. Bien le connaître, pour mieux le combattre. Edition Atlantica, Biarritz, France, 237p.
- ❖ **FERNANDEZ G., RODRIGUEZ R.B et ORANTES-BERMEJ O.F.J.,** 1995- Influence du climat sur le développement de la population du *Varroa jacobsoni* oud. Dans des colonies d'*Apis mellifera iberica* (GOETZE) dans le sud de l'Espagne. Apidologie (26) ,371-380.
- ❖ **Fisher, K., Phillips, C. (2008).** Potential Antimicrobial uses of essential oil in Food: Is citrus the answer. University of Northampton, school of Health, Park campus, boughtou green road, Northampton. Trends in Food science Technology 19,156-164.
- ❖ **Frérés Jm., Guillume Jc. (2011).** L'apiculture écologique d'aaz.nouvelle Ed. Marco Pietteur.Pp.816.119-142p.
- ❖ **Fernandez N. et Coineau Y. (2007).** maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille domestique. Ed. atlantica. p237.
- ❖ **Grissa K, Crnuet JM, Msadda K, Fresney J..** Etude biométriques des populations d'abeilles Tunisiennes. Apidol. 1990 ; 21: 303-10.
- ❖ **Garnero J., 1996 :** Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345 pp 1-45.
- ❖ **GRENIER C, 2012 -** Varroase. GDSA 63 Rev 2012. P 1-3.
- ❖ **GIOVENAZZO P.2011-**Application d'une stratégie de lutte intégrée contre le parasite *Varroa Jacobsoni* dans les colonies d'abeilles mellifères du Québec. Thèse présentée à la Faculté de Médecine Vétérinaire en vue de l'obtention du grade de *philosophiae doctor* (Ph. D.) en sciences vétérinaires. Université de Montréal. Faculté de médecine vétérinaire. P6-42.
- ❖ **Goodwin M et Vaneaton C., 2001:** Control of Varroa, a guide for New Zealand Beekeepers : P40-52.
- ❖ **Grobv. O, 1977 :** La varroase de l'abeille mellifère. Apicta (Bucarest) : P11, P14-148.
- ❖ **Hameurlaine S., 2009.** Mise en évidence de huiles essentielles contenues dans les plantes *pituranthos scopaius* et *rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa. Thèse de magister, option chimie organique appliquée. Université de kasedi merbab d'Ouargla. Algérie.
- ❖ **Hanley Alexandre et Duval Jean., 1995.** La varroase des abeilles. *Agro-bio. Pp* :370 – 08
- ❖ **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.
- ❖ **Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., Roussel, A.M., Favier, A., Briançon, S., 2004.** The SU.VI.MAX Study: à randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. Archives of Internal Medicine 164(21), 2335-2342.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Haubruge E., Nguyen B.K., widart J., et al. (2006).** le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L.1758 (hymenoptera : apidae) : faits et causes probables note faunistiques de Gembloux, 59, 1, 3-21
  
- ❖ **Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L., 1998.** Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. Sciences des aliments, 18,563-582.
  
- ❖ **Ilbert H, Hoxha V, Sahi L, Courivaud A, Chailan C.** Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en 147 Albanie et en Algérie. Options méditerranéennes, n°73, série B : Etudes et Recherches, France Agri Mer ; 2016.
  
- ❖ **Imdorf A., coll., 1998.** Alternative Varroa control. *Am. Bee J.*, 136, pp:189-193.
  
- ❖ **Jacobson., 1904** *Varroa jacobsoni* Oudemans,
  
- ❖ **Jacob-Remacle A. (1990).** Abeilles sauvages et pollinisation. Faculté Des Sciences Agronomiques de Gembloux. 39p.
  
- ❖ **Karimi E., Oskoueian E., Hawa Z.J. (2012).** Phenolic compounds choraetrization and Biological activities of citrus aurantium bloom molecules; **14:** 1203-1218.
  
- ❖ **Kato, T., Lijima, H., Ishihara, k ; Kanek, T., Hirai, K., Naito, Y. & Okuda, K, (1990).** **Antibacterial** effect of listerine on oral bactéria. bull. Tokyo. Dent. coll.31(4) :301-307
  
- ❖ **Kaloustian, J., Minaglou, F, H, (2012).** La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie. Entre science et tradition pour une application raisonnée. Spinger-verlag France paris.
  
- ❖ **Koziol N.** Huiles essentielles d'*eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse pour obtenir le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, France; 2015.
  
- ❖ « **La statistique agricole** » n° 1, mai 1966.et n° 4, septembre 1967
  
- ❖ **Lamarti, A., Badoc, A., Deffieux, G., Cadre, j. (1994).** Biogenèse des monoterpènes, chaine isopréniques, Bull. Soc. Pharm. 133,79-99.
  
- ❖ **Loucif-Ayad W, Achou M, Legout H, Alburaki M, Garnery L,2014** Genetic assessment of Algerian honey bee populations by microsatellite markers. Apidol. .
  
- ❖ **Lerat Serge. Praloran (J.C.).** — *Les agrumes.* 1976. In: *Cahiers d'outre-mer.* N° 118 - 30e année, Avril-juin 1977. pp. 201-202
  
- ❖ **LE CONTE Y. (2004).** Mieux connaitre l'abeille. La vie sociale de la colonie. In : Bruneau E., Barbançon J.-M., Bonnaffé P., Clément H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y., Ratia G., Reeb C., Vaissière B. Le traité Rustica de l'apiculture. Rustica éditions, Paris, 12-83.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Le conte Y. (2006).** mieux connaitre l'abeille. la vie sociale de la colonie. In traité rustica de l'apiculture. Editions rustica ,Paris. pp.ou :12-83
- ❖ **Leroy, E. (2016).** Mon amie le citron : le citron et ses bienfaits sur la santé. Bod books on demande, Amazon, France.
- ❖ **Loussert, R. :** les agrumes arboriculture, tome 1 ; édition scientifique Universitaire, 1987 :113p.
- ❖ **Loussert R., 1989.** les agrumes.2. Production. Tec et Doc, la voisiner. Paris,157p
- ❖ **Lucchesi ; M.E, Chemat F., smadja J., 2004.** Flavour and fragrance, journal flavour fragr J-19,134-138.
- ❖ **Lhomme. M., 1990.** Varroa jacobsoni (oudemans 1904) : morphologie, biologie et étude spécifique du système respiratoire et du comportement, Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Nantes,85p.
- ❖ **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.*, 18, pp: 87-100.
- ❖ **Mayer G.B. (1989).** Produits PFI- CO2, une nouvelle génération de produits pour l'alimentation extraits au CO2. Industries Agro-Alimentaires, 847-853.
- ❖ **MADR, (2012).** Ministre de l'agriculture et de développement rural algérien.
- ❖ **MARTIN G.2009** – influence d'un supplémnt alimentaire sur le développement des colonies d'abeilles domestique (apis mellifère, linæus 1758 ) au qué bec . Thèse doc. Université de Montréal. faculté de médecine vétérinaire département de science chimique 138 P.
- ❖ **Malechy, M., (2008).** Métabolisme des terpénoides chez les caprins ; thèse de Doctorat de l'institut des sciences et industries de vivant et de l'environnement (agro, Paris, Tech), INRA ; P27-35
- ❖ **Marco, G.L. (1968).** A rapid methods for évaluation of antioxydants, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 45, 594 – 8.
- ❖ **Mekademi. K (2018).** L'huile essentielle de citron, un Acaricide pour le parasite d'abeille, ED, Université européenne.
- ❖ **Mohanpriya, M., Ramaswamy, L., Rajendran, R. (2013).** Health and medicinal proprieties of lemon (*Citrus Limonum*). *International journal of Ayurvedic and Herbal medicine.*3.1 (1095-1100).
- ❖ **Mutin Georges.** L'Algérie et ses agrumes. In: Revue de géographie de Lyon, vol. 44, n°1, 1969. pp. 5-36; doi : <https://doi.org/10.3406/geoca.1969.2637>
- ❖ **MONDET F, MAISONNASSE A, KRETZSCHNAR A, ALAUX C, VALLON J, BASSO B, DANGLEAUX A, LE CONTE Y,2016.** Varroa –son impact, les méthodes d'évaluation de l'infestation et les moyennes de luttés. *Innovation agronomique* 53, 63-80

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Nait Achour K.,2012** étude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou, thèse de magister, spécialité chimie appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
  
- ❖ **Oldroyd, B.P., Smolenski, A.J., Cornuet, J.-M., Wongsiri, S., Estoup, A., Rinderer, T.E., Crozier,R.H., 1995.** Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis florea*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 37, 329–335.
  
- ❖ **Ollier. C, 2011.** Le conseil en phytothérapie .2ème édition, PRO-OFFICINA. 178p
  
- ❖ **Ollier, C** l'aromathérapie- le bon usage le moniteur des pharmacies, cahier II du n° 2467, février, 2005.
  
- ❖ **PATERSON P.D (2008).** L'apiculture.Collection Agricultures tropicales en poche, 158 p. Belzunces, L.P., Vandame, R., Gu, X., 1996. Modulation of honey bee thermoregulation by adrenergic compounds. *Neuroreport* 7, 1601–4.
  
- ❖ **Peyron L., 1992 :** Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. *Cité In : Les arômes alimentaires.* Coordinateurs RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria.438 p.
  
- ❖ **Pirbalouti, A; G., Rahimi, B., Moosavi, S, A. (2010).** Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against listeria monocytogenèse on chicken frank furthers. *Acta agriculture.*
  
- ❖ **Pibiri, M. C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, Lausanne, Canada, 177
  
- ❖ **Polèse J. M.,2008 :** la culture des agrumes, édition Artémis, Paris, page 12-13,25.
  
- ❖ **Prost JP.** Apiculture: connaitre l'abeille – conduire le rucher. 6ème édition, Edition Baillière ;1990
  
- ❖ **Prost Jp. (2005).** Apiculture : connaître l'abeille. Conduire le rucher. Ed. j.b. baillière.7em Edition revue et complétée par le conte y. Pp. 698.
  
- ❖ **Pradeau, D., Cohen Y., (1992).** L'analyse pratique du médicament. Ed. *Médical international*, 418-428.
  
- ❖ **RAVAZZI G, 2007-**Abeille et apiculteur, Nouvelles Editions de VECCHI n° : 9849 SA-Paris. p 159
  
- ❖ **R.E., Peng, C.Y.-S., 2001.** Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental Gerontology* 36, 695–711.
  
- ❖ **Ravazzi G.** Abeilles et apiculture. Ed De Vecchi ; 1996.
  
- ❖ **Ramful D., Tarnus E., Aruoma O. I., Bourdon E., Bahorun T. (2011).** Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps; *Food Research International*; **44**: 2088-2099.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Race, S. (1997).** Natural antioxydants, chemistry, Health effects, and application Editeur ferein doon Shahidi, Mémorial University of new found land St Dohn's, new found Canada.
  
- ❖ **Riondet J. (2013).** Le rucher durable. Ed. Ulmer. Paris. Pp. 271.
  
- ❖ **Riccardo Jannoni-S .,2010,Apimondia,** Récolte de fonds
  
- ❖ **Robaux. P., 1986 :**Varroase et Varroatose .Edition Opida,P282.
  
- ❖ **Richter, G., 1993.** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed. Presses polytechniques et universitaires, Romandes. Pp : 318-338.
  
- ❖ **Roulier, G., (1992).** Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edt. Dangles France.
  
- ❖ **Rota, M. C., Herrera, A., Martinez, R. M., Soto Mayor, J. A., & Jordan, M. J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food Control, 19(7), 681–687.
  
- ❖ **Santos R. M., Fortes G. A. C., Ferri P. H., Santos S. C. (2011).** Influence of foliar nutriments on phénol levels in leaves of *Eugenia uniflora*; *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn*;21(4): 581-586
  
- ❖ **SARRAZIN C., LE QUÈRE J.-L., GRETSCH C. ET LIARDON R., 2000 :** Representativeness of coffee aroma extracts : comparison of different extraction methods. Food chem., 2000, vol. 70, pp : 99 – 106.
  
- ❖ **Samate Abdoul D.** Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. Thèse de Doctorat,Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso ; 2001.
  
- ❖ **Schwartz., Davis, R., & Hilton, T.J., (1992).** Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement.Am. j. Dent., 5(3) : 147-150.
  
- ❖ **Seguin E., axel G., Michel P et Orecchioni A.,2001.** Le préparateur en pharmacie, Botanique, pharmacognosie, phytothérapie, homéopathie, dossier 2,108p. pp :143-206.
  
- ❖ **SUCHAIL., 2001 -** Etude pharmacocinétique et pharmacodynamique de la létalité induite par l'imidaclopride et ses métabolites chez l'abeille domestique ( *Apis mellifera L.*), université CLAUD BERNERD-LYON1.
  
- ❖ **SPÜRGIN A. (2008).** Guide de l'abeille. Paris, Delachaux et Niestlé, 126 p. **PHAN-DELEGU M., (1998)** – abeilles .paris : Ed de la Martinière .B 47 P.
  
- ❖ **SAUVAGER F,2012-** Les produits de la ruche et la santé humaine. Conférence donné a la salle Pétrarque de Montpellier. P 12-16.
  
- ❖ **SEHORANS F.J., RUIZ-RODRIGUEZ A., IBANEZ E., TABERA J. et REGLERO G., 2003 :** Isolation of brandy aroma by countercurrent supercritical fluid extraction. Supercrit. Fluids, 2003, Vol. 26, pp : 129 – 135.
  
- ❖ **Shebis, Y., Iluz, D., Tahan, Y, K., Dubinsky, Z., Yehoshua, Y. (2003).** Natural antioxydants function and sources. Food and nutrition science. 4,643-649.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Singh, R., Shushni, M. A. M., & Belkheir, A. (2011).** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.01.019
- ❖ **Sourai, P, G., (1989).** Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry : à review *Odontostomatol. Proodos.*,43(5) : 399-408.
- ❖ **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.
- ❖ **Toullec A. (2008).** Abeille noire historique et sauvegarde. Faculté de medecine de Creteil
- ❖ **TOULLEC A.N.K, (2008) :** Abeille noire, *apis mellifera*, historique et sauvegarde. Thèse de doctorat faculté de médecine de CRETEIL.seine Martine 85p :45.
- ❖ **Teuscher E., Anton R. et Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed Tec&Doc.lavoisier,522P ;5-6.
- ❖ **Tongnuanchan, P., Benjakul, S. (2014).** Essential oil: extraction, bioactivities, and, and, and their uses for Food préservation. Conciste review in Food science.
- ❖ **Truet H., 1940 :** Arboriculture fruitière,3éme édition, imprimerie Charry G., Alger, page 229,230.
- ❖ **Ullah, J., Hamayoum, M., Ahmad, T., Ayub, M., Zofarullah, M. (2003).** Effect of light, Natural and synthetic antioxydants on stability of edible oil and fats *Asian journal of plant science* 2 (17-24) 1192-1194.
- ❖ **Valnet, J., (1974)** Phytothérapie et aromathérapie : nouvelles observations. *Plantes médicinales et phytothérapie*.8 : 229-23
- ❖ **Von Frisch K. (2011).** Vie Et Moeurs Des Abeilles. Ed. Albin Michel. Paris. 21-66p.
- ❖ **Venturini, N. (2012).** Contribution chimique à la définition de la qualité : Exemples Des spiritueux de myrte (*Myrtuscommunis* L) et de cédrat (*Citrus médical*) de corse. Thèse doctorat en chimie. Ecole doctorale environnement et société UMR CNRS 6134 (SPE). P 242.
- ❖ **WIRZ J.,2014-** Comprendre les abeilles, et pratiquer une apiculture respectueuse de leur nature. Extrait de la revue *Elemente Der Naturwissenschaft* n°101 p. 92 à 113.
- ❖ **Willox J-K., Catignani G-L. et Lazurus S. (2003).** Oranges and cardiovascular health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43: 13-18.
- ❖ **Winston Ml. (1993).** La Biologie De L'abeille. Traduit De L'anglais Par G. Lambermont. Edition Frison Roche, Paris.
- ❖ **Winston, M.L., 1993.** La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Edition Frison Roche, Paris
- ❖ **Wendilling,2012.** *Varroa Jacobsoni*.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Wendling Paul Sébastien Lucien, 2012.** Varroa Jacobsoni, un acarien ectoparasite de l'abeille domestique apis mellifera linnaeus, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 196p
- ❖ **Yang, C.S., Landan, S.M., Huang, M.T., Newmark, H.L., 2001.** Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. Annual Revue of Nutrition 21, 381-406.
- ❖ **Ziming Wang. Landing, tiechum LI. Xin Zhoua., Lu Wanga, Hanqi Zhang., LI lin., Ying li., Zhihounliu.,2005.** Journal of chromatography A,1102(2006),11-17.