



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 01
FACULTE DE SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE
LABORATOIRE DE RECHERCHE DES PLANTES MEDICINALES ET
AROMATIQUES

Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de Master académique en
sciences de la nature et de la vie

OPTION : Biotechnologie végétale et valorisation des plantes

Thème :

APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES DANS LE BIOCONTROLE DU
VARROA PARASITE DE L'ABEILLE DOMESTIQUE ET CONCEPTION D'UN
BIOACARICIDE.

Présenté par :

Soutenu le : 08/07/2019

BOUBEKEUR WALID

CHELFAT ILHEM

Devant les membres du jury :

MR BENDALI A.

MAA

Président.

MME ALLAL L.

PROFESSEUR

Examinatrice.

MME BELGUENDOZ R.

MCB

Promotrice.

MME OULEBSIR CHAHINEZ

Doctorante

Co-Promotrice.

Année universitaire : 2018/2019

Remerciement

Nous tenons en premier à remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.

Ensuite...

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements, à notre promotrice Mme BELGUENDOUZ, d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, tout en y gardant un œil critique et avisé. Nous la remercions également de nous avoir responsabilisés tout au long de notre travail. Mme OULEBSIR Chahinez notre Co promotrice pour nous avoir, conseillé, aidé et encouragé, ainsi pour sa patience et ses précieux conseils.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Mme ZITOUNI de nous avoir accueillies au sein de ITELV et à Mr HANNED de nous avoir soutenue et de nous avoir accordé son temps tout au long de notre travail

Un grand et respectueux remerciement à Mme ALAL et Mr BENDALI, de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.

Je dédie ce mémoire à :

Mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mon frère et mes sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

RESUME

L'objectif de notre travail était de mettre en évidence l'activité bio acaricide de l'huile essentielle du thym (*Thymus vulgaris*) et la conception d'un traitement qui s'inscrit dans la lutte contre le Varroa.

Nous avons étudié l'impact du thym prélevé au niveau de Blida, sur la dynamique du Varroa et son hôte l'abeille, quatre groupes ont été constitués au niveau d'ITELV à partir de 40 ruches. Le premier a été traité avec de l'huile essentielle du thym uniquement, le second par l'huile essentielle du thym associé à la propolis, le troisième n'a subi aucun traitement, quant au dernier, il a été traité avec un produit de synthèse conventionnel Bayvarol.

Il ressort des résultats obtenus que les traitements à base d'huile essentielle du thym avaient été plus efficaces que le traitement conventionnel, un taux d'efficacité de 54.8% pour le traitement à base d'huile essentielle et 45.8 % pour le mélange huile essentielle associé à la propolis contre 43.7% Pour le traitement chimique Bayvarol.

Mots-clés : Apiculture, *Apis mellifera*, *Varroa destructor* , traitement, huiles essentielles, Bayvarol, *Thymus vulgaris*. *Bioacaricide*, *Propolis*.

Abstract

The objective of our work was to highlight the bio acaricide activity of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) and the design of a treatment that is part of the fight against Varroa.

We studied the impact of thyme collected in region Blida, on the dynamics of Varroa and its host the bee, four groups were formed at ITELV from 40 hives. The first one was treated with thyme essential oil only, the second with the thyme essential oil associated with propolis, the third did not undergo any treatment, as for the last, it was treated with a product Bayvarol conventional synthesis.

The results show that thyme essential oil treatments were more effective than conventional treatment, an efficacy rate of 54.8% for the essential oil treatment and 45.8% for the essential oil blend associated with propolis against 43.7% for the chemical treatment Bayvarol.

Key words: Apiculture, *Apis mellifera*, *Varroa destructor*, Treatment, Essential oils, Bayvarol, *Thymus vulgaris*, Bioacaricide, *Propolis*

ملخص

كان الهدف من عملنا هو تسليط الضوء على نشاط مبيد القراد الحيوي لزيت الزعتر الأساسي (*Thymus vulgaris*) وتصميم علاج يشكّل جزءًا من المعركة ضد الفاروا.

درسنا تأثير الزعتر التي تم جمعها على مستوى البليدة ، على ديناميات *Varroa* ومضيفها النحلة ، تم تشكيل أربع مجموعات على مستوى ITELV من 40 خلية. الأولى عولجت بزيت الزعتر الأساسي فقط ، والثانية بزيت الزعتر الأساسي المصاحب للبروبوليس ، والثالث لم يخضع لأي علاج ، لأنه في الأخير ، عولج بمنتج Bayvarol التوليف التقليدي.

أظهرت النتائج أن معالجات الزيوت العطرية الأساسية كانت أكثر فاعلية من العلاج التقليدي ، ومعدل فعالية قدره 54.8 % للمعالجة بالزيوت الأساسية و 45.8 % لمزيج الزيوت الأساسية. المرتبطة دنج ضد 43.7 % للمعالجة الكيميائية Bayvarol

الكلمات الرئيسية

الصعترية Bayvarol ، العلاج ، الزيوت الأساسية ، *Varroa destructor* ، *Apis mellifera* : النحل ،

LISTE DES ABREVIATIONS

HE : huile essentielle

ITELV : institut technique des élevages

MC : concentration du mélange huile essentielle propolis

HC : Concentration huile essentielle

OMN : office national météo.

µL : microlitres.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification d' <i>Apis mellifera</i>	4
Tableau II : taxonomie du varroa D'après la classification d'Anderson & Trueman	10
Tableau III : la classification de <i>Thymus vulgaris</i>	13
Tableau IV : Liste des pesticides chimiques autorisés dans l'union européenne 2017.....	23
Tableau V : l'ensemble des bioproduits autorisés dans l'union européenne pour lutter contre le Varroa 2017.....	26
Tableau VI : produits traditionnels utilisées dans la lutte contre le Varroa	28
Tableau VII : liste des techniques de lutte biotechnologique répondue	29
Tableau VIII : Températures mensuelles moyennes enregistrées à Baba Ali en 2018ques de lutte biotechnologique répondue	33
Tableau IX : Plante utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle	37
Tableau X : Concentrations utilisées pour le test de toxicité sur les abeilles	42
Tableau XI : Rendement et teneur en eau du Thym récolté	45
Tableau XII : Résultats d'indice de réfraction observée sur le refractomètre à 20 degrés Celsius	51
Tableau XIII : Résultats du test de toxicité sur les abeilles	52
Tableau XIV : Volume de la boîte a essais ainsi que de la ruche du type Langstroth	52
Tableau XV : Taux d'infestation des ruches avant traitement	52
Tableau XVI : Taux d'infestation des ruches après traitement	53
Tableau XVII : Analyse de la variance model GLM sur l'influence de nos traitements	56

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : la morphologie externe d'une ouvrière.....	4
Figure 02 : Photos d'abeilles <i>Apis mellifera</i>	6
Figure 03 : l'étape majeure du développement de l'abeille domestique.....	6
Figure 04 : Les différents stades de développement d' <i>Apis mellifera</i>	6
Figure 05 : Secteurs environnementaux visités par l'abeille.....	7
Figure 06 : Photo d'une femelle adulte Varroa prise par microscope électronique à balayage.....	11
Figure 07 : Photo d'un varroa fixé sur une abeille.....	11
Figure 08 : <i>Thymus vulgaris</i>	14
Figure 09 : Montage d'extraction de type Clevenger.....	21
Figure 10 : Localisation géographique de l'Itelv.....	21
Figure 11 : type de végétation près des ruches à l'ITELV.....	32
Figure 12 : Disposition des ruches sur le site d'expérimentation.....	34
Figure 13 : Ruche de type LANGSTROTH.....	35
Figure 14 : matériel apicole nécessaire.....	37
Figure 15 : Langes en métal.....	37
Figure 16 : Traitement contre le varroa BAYVAROL.....	38
Figure 17 : Diapositive Cleavenger.....	39
Figure 18 : Préparation du matériel végétale dans le ballon.....	40
Figure 19 : Hydro distillation par Clévenger méthode employé pour l'extraction de l'huile essentielle du thym.....	41

Figure 20 : Varroa mortes exposé à la dose le faible de notre traitement après 12h.....	42
Figure 21 : diagramme d'un Refractomètre.....	43
Figure 22 : Dispositifs du Rotavapeur.....	43
Figure 23 : Zone de dépôt de l'abaisse langue dans les ruches.....	46
Figure 24 : Méthode de dénombrement des varroas morts sur les langes.....	47
Figure 25 : Conditions climatiques journalière moyenne relevées durant la période 04/03/2019- 31/03/2019 (ONM, 2019).....	51
Figure 26 : Taux d'infestation des ruches avant traitement avec l'huile essentielle.....	53
Figure 27 : Evolution temporelle de la mortalité du Varroa pour le traitement biologique à base d'huile essentielle du Thym.....	54
Figure 28 : Evolution temporelle de la mortalité du Varroa pour le traitement biologique mélange huile essentielle du Thym avec la propolis.....	55
Figure 29 : Evolution temporelle du taux de mortalité du Varroa pour traitement chimique Bayvarol.....	56
Figure 30 : Efficacité des traitements dans le contrôle du Varroa.....	57
Figure 31 : Analyse de la variance model GLM de mortalité de varroa après traitement en fonction des semaines – le traitement – la concentration.....	58
Figure 32 : Analyse de la variance model GLM de la mortalité du Varroa après traitement pour l'ensemble des facteurs.....	59

Sommaire

REMERCIEMENT

DEDICACES

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION1

PARTIE I : Recherche Bibliographique.

Chapitre 01 : Biologie de l'abeille *Apis mellifera*

1. Présentation de l'abeille domestique *Apis mellifera* 4

2. Taxonomie4

3. Répartition d'*Apis mellifera*4

4. Anatomie et morphologie de l'abeille5

5. Cycles de développement6

6. Intérêt de l'abeille7

7. Maladies et parasites d'*Apis mellifera*9

Chapitre 02 : La Varroase.

1. Historique11

2. Présentation du varroa11

3. Taxonomie11

4. Description du varroa11

5. Reproduction du varroa12

6. Mécanisme et symptômes13

8. Méthodes de contrôle du Varroa14

8.1. Méthode chimique14

8.1.1. Avantages des pesticides chimiques17

8.1.2. Inconvénients des pesticides chimiques	17
8.2. Méthodes biologiques	18
8.2.1. Avantages des méthodes biologiques	19
8.2.2. Inconvénients des méthodes biologiques	19
8.3. Méthodes biotechnologiques	21
8.3.1. Avantage des méthodes biotechnologiques	22
8.3.2. Inconvénients des méthodes biotechnologiques	22

Chapitre 03 : La plante utilisée *Thymus vulgaris*.

1. Généralité sur les Lamiacées	23
2. Présentation de la plante utilisée <i>Thymus vulgaris</i>	23
3. Classification	23
4. Description botanique	23
5. Répartition géographique	24
6. Propriétés du Thym	24
7. Huile essentielle du Thym	24
8. Localisation des huiles essentielles	25
9. Variabilité des huiles essentielles	25
10. Fonctions biologiques des huiles essentielles	26
11. Les huiles essentielles autant que bio pesticide	26
12. Impact sur l'environnement et la santé humaine	26
13. Toxicité des huiles essentielles	26
14. Conservation des huiles essentiels	27
15. Extraction de l'huile essentielle	27

PARTIE II : Matériel et méthodes.

1. Objectif	30
2. Présentation de la région d'étude	30
2.1 Critères de choix du site	30

2.2 Site de déroulement des études	30
3. Conditions climatiques	31
3.1 Température	31
4. La flore de la zone d'étude	32
5. Présentation des ruches d'études	33

Chapitre 01 : Matériel.

1. Matériel apicole	34
2. Matériel animal	36
3. Matériel végétal	36
4. Matériel non biologique	36
5. Matériel du laboratoire	37

Chapitre 02 : Méthodes.

1. Méthode de récolte du Thym	39
2. Protocole expérimentale d'extraction des huiles essentielles	39
3. Rendement en huiles essentielles	40
4. Test de pureté de l'huile essentielle	40
5. Choix des doses	40
6. Test de toxicité de l'huile essentielle sur les abeilles	41
7. Test de toxicité de l'huile essentielle sur le Varroa	41
8. Traitement de la propolis	42
9. Formulation du traitement bioacaricide	43
10. Méthode d'étude de l'effet du traitement	43
11. Méthode d'application du traitement sur les ruchers	44
12. Méthode Estimation du Varroa	45
13. Méthode estimation nombre abeilles dans une colonie	46
14. Calcul du taux d'infestation d'une colonie avant traitement	46
15. Expression des résultats	47
16. Analyses statistiques des données	47

PARTIE III : Résultats et discussion.

Chapitre 01 : Résultats.

1. Résultats	49
1.1 Rendement en huile essentielle	49
1.2 Réfractométrie	49
1.3 Test de toxicité sur les abeilles	50
1.4 Test de toxicité sur le varroa	50
1.5 Taux d'infestation du varroa avant traitement	51
1.6 Evaluation temporelle du nombre de varroa mort après traitements	52
1.7 Taux d'infestation du varroa après traitement	55
1.8 Efficacité des traitements dans le contrôle du varroa	55
1.9 Résultat de l'analyse de variance sur test GLM des traitement sur taux de mortalité du varroa.....	56

Chapitre 02 : Discussion.

1. Discussion	59
---------------------	----

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

L'apiculture est une préoccupation très ancienne, la présence de l'abeille chez les populations agricole de l'antiquité est mise en évidence par des dessins gravés dans des tombeaux. Plusieurs travaux datant de l'antiquité évoquent la vie des abeilles (**Roussy, 1973 ; Weiss, 1985**).

L'abeille est un insecte très important, elle assure la pollinisation des près de 80% des espèces végétales, processus indispensable à la reproduction sexuée des plantes à fleurs (**Williams, 1994**) Elle est aussi à l'origine d'une industrie économique basé sur les produits de la ruche, tel que la production du miel, de la propolis, de la gelée royale, du pollen et de la cire. Ces produits de la ruche au point de vue économique grâce à leur commercialisation et leurs effets bénéfiques sur la santé (**Bogdanov, 2006**).

Cependant, depuis les dernières d'années, les apiculteurs observent une mortalité anormale des colonies d'abeilles dans leurs ruchers (**Toma et al., 2009**). Ce fléau est causé par plusieurs facteurs tels que les prédateurs, les pathogènes, parasites et les résidus des pesticides (**Vanengelsdorp et al., 2009 ; Vanengelsdorp et Meixner, 2010**).

L'agent responsable de la Varroase, *Varroa destructor* est considéré comme l'un des parasite les plus dévastateur des abeilles domestiques *Apis mellifera*, il ne cesse de causer d'importants dégâts économiques dans l'apiculture à travers le monde (**Baker et peng, 1995**). Il se nourrit de l'hémolymphe des abeilles causant de graves anomalies physiques et une réduction de croissance, menant au déclin de toute une colonie (**Bowen-walker et Gunn, 2001**).

Durant les années passées, les insecticides de synthèse étaient la seule source de lutte contre ce parasite. Ces derniers ont conduit à l'apparition de résistances chez le parasite (**Milani 1995 ; Elzen et al., 1999**) plus grave encore, des études avaient révélé l'accumulation de résidus chimiques dans les produits de la ruche (**Wallner, 1999**) conduisent par la suite à de sévères maladies chez les consommateurs (**Lee et al., 2004**). De tels scandales ont forcées les chercheurs à travers le monde à trouver de nouvelles alternatives pour le contrôle du parasite.

Récemment, plusieurs études ont conclus que l'utilisation des huiles essentielles et la propolis sur le varroa était prometteuse, l'effet acaricide des huiles essentielles tel que celui du *Thym vulgaris* sur le Varroa associé à la propolis (**Imadorf et al., 1999**) semblait être une solution efficace et durable pour l'environnement.

Notre travail s'inscrit dans ce cadre et a pour objectif :

L'étude de l'effet acaricide de l'huile essentielle du Thym extrait de la plante *Thymus vulgaris* associé à la propolis, sur le parasite *Varroa jacobsoni* de l'abeille *Apis mellifera*.

De déterminer la concentration optimale d'efficacité de l'huile essentielle et de la propolis contre le parasite, et évaluation des effets secondaires du traitement sur les abeilles, puis établir une comparaison sur l'efficacité de bioacaricide avec un traitement de synthèse conventionnel Bayvarol.

Pour mieux situer le contexte dans lequel s'inscrit cette étude, une première partie sera dédiée à la synthèse bibliographique sur de l'abeille, son parasite et la plante étudiée.

La seconde partie sera consacrée à la présentation des résultats de l'étude de l'effet bioacaricide d'huile essentielle du Thym, ainsi que la discussion de ces résultats.

Nous clôturons le travail avec une conclusion générale.

Partie I

Recherche bibliographique

Chapitre 01 : Biologie de l'abeille *Apis mellifera*

1. Présentation de l'abeille domestique *Apis mellifera* :

L'abeille est un insecte social qui vit en colonies. Sa vie est conditionnée par des facteurs physiologiques qui dépendent des conditions du milieu et de la nourriture ainsi que de l'état de la colonie. Les abeilles couvrent leurs besoins nutritifs avec des éléments végétaux, issus du nectar du pollen des fleurs (**Fig. 1**).



Figure 01 : Photos d'abeilles *Apis mellifera* (**Originale**).

2. Taxonomie :

Tableau I : Classification d'*Apis mellifera* (**Le conte, 2004**).

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Sous-embranchement :	Hexapodes
Classe :	Insectes
Ordre :	Hyménoptères
Famille :	Apidés
Genre :	<i>Apis</i>
Espèce :	<i>Apis mellifera</i>

3. Répartition d'*Apis mellifera* :

L'habitat naturel de l'abeille domestique s'étend de la pointe sud de l'Afrique à travers la savane, la forêt pluviale, le désert et le climat tempéré de la méditerranée avant d'atteindre la limite de son aire de répartition dans le nord de l'Europe, avec une variété d'habitats, de conditions climatiques et de flores qui indique qu'il n'est pas surprenant de trouver de

nombreuses races d'abeilles ayant chacune des caractéristiques distinctives adaptées à chaque région (**Louveaux, 1966**).

La reconnaissance des races valides a toujours été difficile pour un certain nombre de raisons. Le mouvement des abeilles mellifères dans le monde entier pour l'apiculture a modifié le parcours naturel de chaque race et entraîné une hybridation considérable. La sélection des races par les apiculteurs pour des caractéristiques utiles dans la gestion peut modifier le génotype naturel des races et particulièrement dans les zones d'apiculture intensive où des colonies sauvages, peuvent être des descendants d'essaims qui se sont échappés des ruches.

Une autre difficulté est que les scientifiques et les apiculteurs n'utilisent pas toujours les mêmes critères pour déterminer ce qu'est une race. Les scientifiques ont tendance à utiliser des mesures morphologique et les caractéristiques telles que les nervures des ailes, la longueur alternée et la taille de certaines parties du corps (**Ruttner, 1975; Daly et Balling, 1978; Tassencourt et Louveaux, 1978**). Quelques conclusions générales sont apparues concernant les caractéristiques et les lieux d'origine de nombreuses races d'abeilles mellifères et ont été résumées par Ruttner (**Tassencourt et Louveaux, 1978**). Il a divisé les races d'abeilles en trois groupes distincts : africain, européen et oriental.

On s'intéresse plus à la race nord-africaine *Apis mellifera* dont elle est présente au nord du Sahara, de la Libye au Maroc, et plus précisément en Algérie. Elle est réputée être agressive et ses essaims se reproduisent souvent par plus de 100 reines à chaque période d'essaimage. Pendant les sécheresses, plus de 80% de colonie peut mourir en raison d'un essaim intensif, le nombre de colonies rebondit lorsque la situation s'améliore (**Ruttner, 1975b**).

4. Anatomie et morphologie de l'abeille :

Une abeille est composée d'une série de plaques durcies par des membranes et recouverte par un épais tas de poils. L'exosquelette est divisé en 03 parties:

- **La tête** de forme ovoïde, porte une paire d'yeux composés et trois ocelles (**Yanase et Kataoka, 1963**), une paire d'antennes, les pièces buccales de type broyeur-suceur formé de deux mandibules et d'une trompe à fonction nutritionnelle.

- **Le thorax** est composé de trois segments, chacun portant une paire de pattes et une paire d'ailes.

- **L'abdomen** se compose de sept segments visibles et contient la majeure partie des systèmes organiques internes.

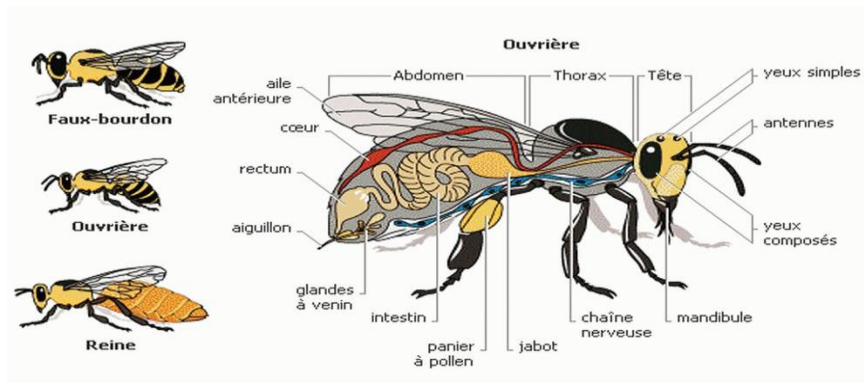


Figure 02 : Anatomie d'une abeille (Opie, 2019).

5. Cycle de développement :

Le développement d'une abeille adulte, passe par trois étapes : le stade de l'œuf, le stade larvaire et le stade nymphal (Von frisch, 2011).

À partir de l'œuf fécondé se forme un embryon à l'état de larve segmenté. Pendant les trois premiers jours, toutes les larves sont nourries avec de la bouillie royale. A partir du quatrième jour, certaines larves choisies par les ouvrières continuent à être alimentées par cette bouillie, ou gelée royale, elles deviendront des reines. Les autres larves sont les futures ouvrières et sont nourries avec du miel ou du pollen (Von frisch, 2011). Dès le sixième ou septième jour, les larves atteignent leur maturité et deviennent capables de se nourrir toutes seules, elle subit plusieurs mues successives puis tisse entre 24h à 48h un cocon très fin après cela la larve reste immobile pendant 2 jours et demi pendant cette phase la larve prépare sa transformation en nymphe. Cette période s'achève vers les 8ème ou 9ème jours par une nouvelle mue, s'accomplie par la nymphe laquelle ressemble déjà à l'abeille adulte. Pendant les 8 jours suivant se fait la libération de l'imago ou l'adulte (fig. 3).

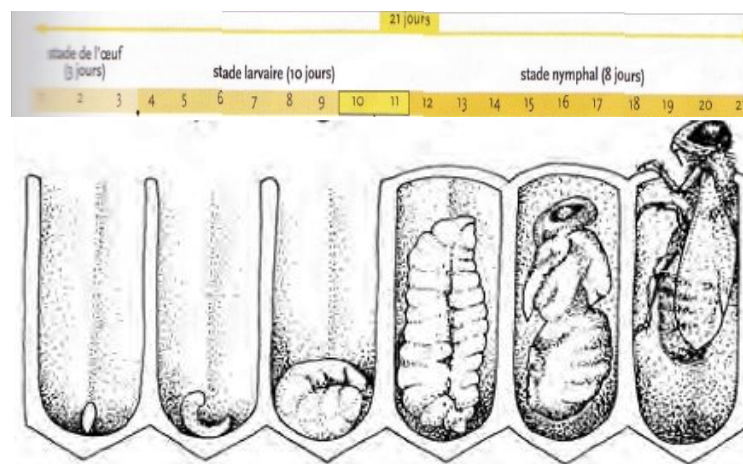


Figure 03 : l'étape majeure du développement de l'abeille domestique (Russell, 2015).

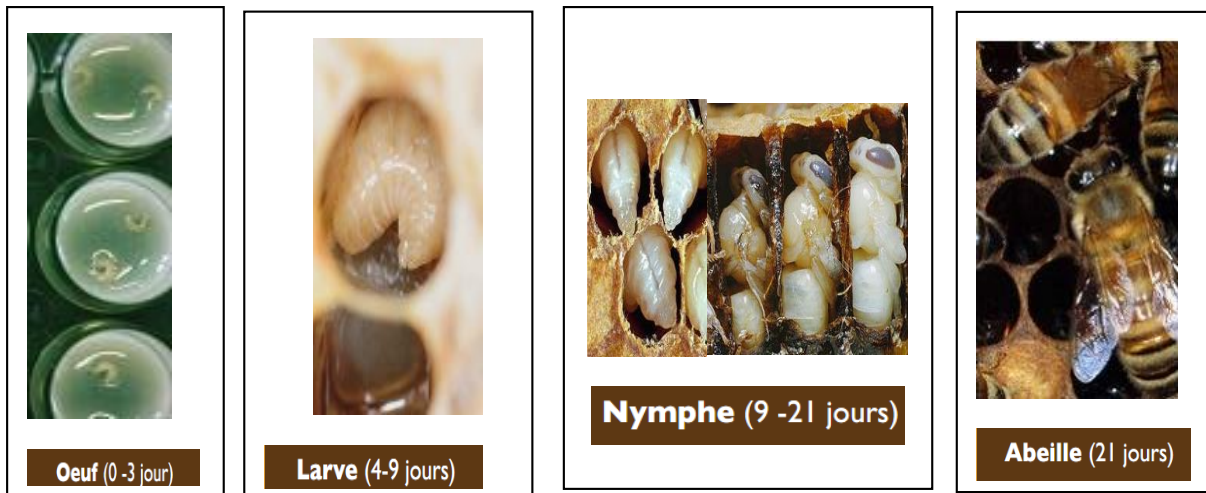


Figure 04 : Les différents stades de développement d'*Apis mellifera* (Jurgen tautz, 2007).

6. Intérêt de l'abeille :

L'abeille se distingue par de nombreux atouts pour l'environnement, tant que pour l'Homme. Elle intervient comme un acteur principal dans l'écologie à travers la pollinisation des plantes allogames, ainsi, lors de la récolte du pollen et du nectar présent dans les fleurs, elle déplace les gamètes vers d'autres fleurs. Sachant que la majorité des plantes sont allogames, elle contribue à la reproduction des plantes et plus encore à l'amélioration des rendements (Benachour et al., 2007).

Egalement, elle est considérée comme un Bio indicateur de pollution. L'abeille durant son quotidien visite plusieurs secteurs (Fig 05) collectant ainsi les microparticules de métaux lourds, pesticides, et autres polluants dans son parcours (Porrini et al., 2003). En présence de fortes concentrations de toxines elles meurent indiquant ainsi un environnement pollué. Des analyses sont ensuite établies sur les cadavres, ou sur le miel, le pollen, le nectar et les produits de la ruche pour retracer la source de la pollution.

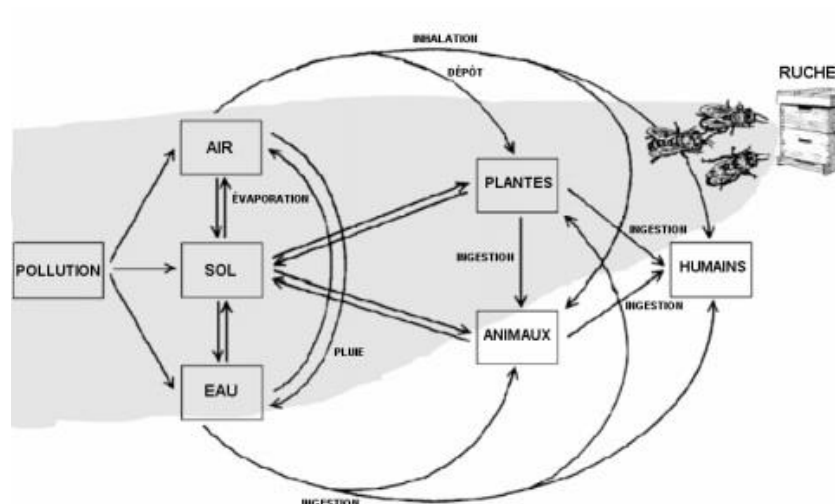


Figure 05 : Secteurs environnementaux visités par l'abeille (Porrini et al., 2003).

Pour l'Homme, elle lui procure toute une gamme de produits issus de fleurs et de végétaux transformés qui nous rappellent peuvent être contaminée par les polluants :

- **Le miel :**

Qui est une substance sucrée originaire du nectar recueilli sur les fleurs, les abeilles butineuses le transforment en un produit concentré le miel. Il est constitué à 80% de sucre et de 20% d'eau, d'un ou de plusieurs sucres (**Bonté et al., 2013**).

Très utilisé dans la gastronomie, il se caractérise aussi par des vertus thérapeutiques. En effet, due aux produits contenus comme les enzymes ou la propolis, il est consommé pour atténuer plusieurs pathologies de la gorge et du tube digestif (**Mutsaers et al., 2005**).

- **La gelée royale :**

Produit très riche en matière nutritive, vitamines et pollen, il est produit en de très petite quantité par les jeunes abeilles (**Boutang et Moulier Yann, 2010**).

Ce produit comporte aussi des vertus thérapeutiques, il porte une action antimicrobienne à large spectre et est recommandée en cas de troubles du tube digestif, l'anorexie, l'hypertension et d'autres signes de faiblesses (**Mutsaers et al., 2005**).

- **Le pollen :**

Collecté sur les étamines des fleurs, et transformé ensuite en pelotes qu'elles stockent sur leurs abdomens. Il est donné aux abeilles ouvrières afin de le transformer après digestion en gelée royale (**Mutsaers et al., 2005**).

Le pollen contient plusieurs substances bioactives issues des plantes, ils offrent une action anti oxydante, un effet tonus pour le corps humain. Il est très apprécié par les sportifs en raison de son apport alimentaire en oligoéléments.

- **La cire d'abeille :**

Elle est un mélange de résines et de gommes récoltées dans la nature, une fois traité par l'abeille elle devient une fraction dure et non soluble dans l'eau. C'est l'élément essentiel dans la structure de leurs ruches.

Dans l'apiculture, elle est utilisée dans la fabrication des rayons et des cadres. Dans d'autres secteurs elle est utilisée comme agent de lubrification sur le bois et le cuir et d'autres matériaux pour la protection. L'industrie cosmétique l'emploie également comme agent de liaison pour les huiles et graisses (**Kacàniovà et al., 2012**).

Etant inerte avec toute interaction chimique elle est aussi utilisée comme excipient pharmaceutique dans certaines formulations ou comme un régulateur thermique par les kinésithérapeutes afin de traiter les affections rhumatismales (**Mutsaers et al., 2005**).

- **La propolis :**

C'est la résine des cires et des gommes récoltés dans les arbres, transformé par les abeilles, associé à leurs cires et à leurs sécrétions, elles en font une substance brune et parfumée. Les abeilles l'utilisent pour colmater les trous et les fissures dans la ruche, et pour embaumer les cadavres.

Cette substance comporte une fraction d'huiles essentielles et de flavonoïdes associés à d'autres matières qui composent la cire d'abeille (**Huang, et al., 2014**).

La propolis n'est pas composé de protéine ni d'hydrate de carbone, ce qui lui accorde aucune valeur énergétique, cependant le fait de sa composition divers elle se caractérise par une action thérapeutique à large spectre contre les microbes. Dans d'autres domaines elle est utilisée comme traitement pour la peau et l'os et pour soigner les blessures (**Mutsaers et al., 2005**).

- **Le venin d'abeille :**

Très utilisé dans la médecine populaire africaine pour guérir les rhumatismes, l'arthrite et les troubles de la tension chez les personnes non allergiques.

En plus de tous ces avantages, sans elle, toute une chaîne alimentaire serait rompue, menant ainsi au déclin d'un écosystème. Il est donc impératif de protéger cet insecte (**Oster et al., 2014**).

7. Maladies et parasites d'*Apis mellifera* :

Bien que l'abeille mellifère, soit l'un des auxiliaires les plus importants de l'agriculture, étant source de nombreux emplois à travers le monde, elle est sujette à de nombreuses maladies. L'espèce la plus importante en apiculture est l'abeille mellifère (*Apis mellifera*), parmi ses maladies nous avons :

- **La nosémose :**

Maladie provoquée par une microsporidie du genre *Nosema* qui est un eucaryote unicellulaire apparent aux champignons. C'est un parasite intracellulaire obligatoire sur de nombreuses espèces connues, la plupart sont des parasites des poissons et des arthropodes qui touche le système digestif de l'abeille adulte (**Delbace, 2009**).

- **Loque américaine :**

Est une maladie bactérienne sévère du couvain de l'abeille mellifère, elle est due à la bactérie sporulée *Paenibacillus larvae*, qui produit des exospores extrêmement résistantes à la déshydratation, à la chaleur, au froid et aux agents désinfectants (**Genersch, 2010**), elle présente plusieurs symptômes tel que l'hétérogénéité de l'operculation du cadre, couvain en mosaïque (**Fernandez et Coineau, 2007**) rapporte la présence à l'intérieur des cellules du couvain des écailles de couleur brun foncé à noir.

- **Les virus :**

Durant ces dernières années de nombreux virus ont été identifiés dans les colonies d'abeilles (**Ioucif-ayad et al., 2013 ; Adjlane et al., 2015 ; Amakpe et al., 2015 ; Hamiduzzaman et al., 2015**). On en dénombre aujourd'hui entre 15 et 20 dont la particularité est d'être pour la majorité des virus à ARN (*Picornalike virus, Dicistrovidae virus*) (**vidal-naquet, 2012**) Ces infections virales inapparentes pourraient être présentes dans les colonies sur plusieurs générations causant peu ou pas de signes visibles.

- **Varroase :**

Le parasite de l'abeille adulte et de son couvain, due à un acarien parasite externe hématophage, *Varroa destructor* (**Anderson et Trueman, 2000**), les symptômes de la varroase englobent des troubles du couvain et des abeilles (**Charriere et al., 2012**).

Chapitre 02 : La Varroase.

1. Historique :

La varroase est une maladie provoquée par un acarien originaire d'Asie du Sud-Est, découvert en 1904 par Jacobson et Oudemans. Ils parlent de ce parasite comme agent affectant les colonies d'*Apis cerana* dans le quelle il n'avait pas de grand dégâts (P.Medori et M.E.Colin, 1982).

C'est lorsque la contagion s'étendit vers les colonies d'*Apis mellifica* qu'elle devenu une épizootie, qui a ravagé en quelques années plusieurs pays de l'union soviétique, la chine, d'Europe de l'est et poursuivra son chemin vers les pays la méditerranée). D'autres pays également finiront par être touché, comme le Japon et l'Amérique du sud suite à l'importation d'abeilles parasitées. (P.Medori et M.E.Colin, 1982).

2. Présentation du varroa :

Le varroa est connu sous le nom scientifique *Varroa destructor* qui responsable de la Varroase sur les abeilles *Apis mellifica* (Denis L. Anderson, 2000). Ces dernières sont plus sensible que les abeilles asiatiques *Apis cerana* qui ont des comportements de toilettages des adultes et de vérification des larves par les ouvrières, un comportement qui leurs permet de détecter et d'éliminer le parasite. Cette aptitude est presque absente chez les abeilles *Apis mellifica*. (Y.Le Conte et al., 2015).

3. Taxonomie :

Tableau II : Classification du varroa (Anderson et Trueman, 2000).

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Sous-embranchement :	Chelicerata
Classe :	Arachnida
Sous-classe :	Acari
Super-ordre :	Parasitiformes
Cohorte :	Gamasina
Sous-cohorte :	Dermanyssiae
Super-famille :	Dermanyssoidea
Famille :	Varroidae
Genre :	Varroa
Especie :	<i>Varroa destructor</i>

4. Description du Varroa :

C'est un ectoparasite visible à l'œil nu, il se nourri du sang de son hôte l'abeille qu'elle soit adulte, larve, reine ou ouvrière, durant ses deux stades d'évolution à savoir nymphe et adulte (P.Medori et M.E.Colin, 1982).

Il se caractérise par une forme de crabe dite « tourteau » et sa taille est de l'ordre de deux millimètres. Sa couleur varie du marron clair au foncé, très souvent confondu avec le pou de l'abeille *Braula caeca*. Toutefois, un examen de la forme peut trancher en faveur du varroa si elle est trapue (**P.Medori et M.E.Colin, 1982**).

Il est important de mentionner que le varroa possède quatre paires de pattes comme tous acariens qui lui permettent de s'agripper à l'abeille (**P.Medori et M.E.Colin, 1982**), il se reproduit dans le couvain operculé (**Donzé et Gérard et al., 1998**). Il est doté d'un rostre acéré qui lui permet de perforer les téguments et se nourrir (**André Lequet, 2012**) (**Fig.2**).

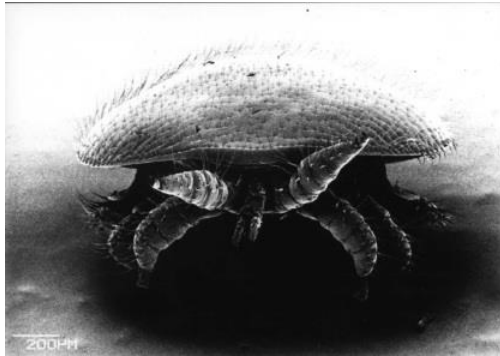


Figure 06 : Photo d'une femelle adulte Varroa prise par microscope électronique à balayage (**DC Schroeder et al., 2012**).



Figure 07 : Photo d'un varroa fixé sur une abeille (**Originale**).

5. Reproduction :

La femelle varroa pond ses œufs dans une cellule occupée par une larve d'abeille nourrie. Après que les ouvrières ont operculé la cellule, la femelle pond trois à huit œufs. Certains deviendront des femelles après avoir été fertilisé par les mâles, alors que les œufs non fertilisés produiront que des mâles. Au bout de quelques jours jusqu'à une semaine, les mâles atteignent le stade adulte en premier suivi des femelles deux à trois jours après (**Alexandre et Duval, 1995**).

Doté d'un appareil buccal adapté, les femelles attaquent l'abeille, percent le tégument et se nourrissent de son hémolymphe, substance qui est essentiel pour le processus de ponte. Chaque heure elles prennent deux tiers de leurs poids en sang, elles peuvent vivre jusqu'à trois mois en été et six en hiver. Tandis que les mâles continueront à dépendre de la nourriture présente dans l'alvéole puis meurent (**Alexandre et Duval, 1995**).

Une fois adulte, les femelles varroa se déplacent dans la ruche en s'accrochant aux abeilles. Si le choix leur est offert, les femelles varroa préféreront les cellules de faux-bourdons pour la ponte. Elles le feront habituellement dans les deux semaines suivant leur éclosion (**Alexandre et Duval, 1995**).

6. Mécanisme et symptômes d'infestation :

L'acarien *Varroa destructor* possède l'aptitude de mimer la cuticule de l'abeille une fois accrocher et ainsi, pouvoir passer la détection des abeilles. En plus du fait qu'il peut perforer la membrane inter segmentaire entre les segments abdominaux de l'abeille pour se nourrir (Y.Le Conte et al., 2015).

Les signes les plus apparents sont la présence de parasites au niveau des abeilles mortes, les femelles varroa qui s'y attachent jusqu'à une vingtaine. Egalement les diverses mutilations morphologique observée sur les nymphes causé par piqures, en plus de cela, on retrouve sous les opercules du couvain le parasite à divers stades de son évolution (Oie, 2008). Chez les faux-bourçons, les ailes sont souvent déformées à cause du Varroa, la durée de vie des abeilles est raccourcie, mais aussi les abeilles perdent de leurs poids (Alexandre et Duval, 1995).

Pour d'autres cas, on constate des abeilles tortillant de l'abdomen. En se nourrissant de l'hémolymphe, l'abeille est formellement affaiblie ce qui affecte grandement la qualité de gelée royale produite par conséquent le développement du couvain. La présence de trainé d'un liquide blanc représentant les excréments de l'acarien peut être visible autour des alvéoles (Aubiar, 2016).

Il faut noter aussi que le parasite est vecteur d'un grand nombre de virus et de bactéries (Ball, 1985).

7. Les dégâts du Varroa :

Les symptômes cliniques de la Varroase englobent des troubles du couvain et des abeilles (Charriere et al.,2012) .Le parasite agit chez des abeilles adultes et sur le couvain selon les modalités suivantes:

- **Par une action mécanique:** la présence d'un ou plusieurs parasites chez l'abeille adulte altère son comportement au détriment de ses tâches habituelles. Elle perturbe le développement harmonieux du couvain et peut léser les plaques imaginaires à l'origine des appendices de la future abeille ;
- **Par une action spoliatrice:** la prise répétée d'hémolymphe, au cours de la plupart des stades de développement des abeilles (Fernandez et Coineau, 2002) qui aura pour conséquence l'affaiblissement de l'abeille et la déformation des jeunes abeilles, après contact dans l'alvéole.

8. Méthode de contrôle du Varroa.

Le parasite *Varroa destructor* est considéré comme le fléau de l'apiculture (**Valérie, 2016**), aucun autre pathogène n'inflige autant de dommage sur les colonies d'abeilles. Lorsque l'infestation est à ses débuts, il est impossible de le détecter, à l'estimer et à le contrôler (**Rosenkranz, 2010**), en plus il est vecteur de nombreux virus (**Ball, 1985**).

C'est pour cela que les apicultures utilisent tout un arsenal pour tenter de contrôler ce parasite, et de limiter les pertes causées aux ruchers (**Rosenkranz, 2010**). Divers procédés de contrôles sont appliqués rigoureusement, ces derniers sont répartis en trois groupes majeurs :

- Méthodes chimiques.
- Méthodes biologiques.
- Méthodes biotechnologiques.

9.1.Méthodes chimiques :

Cette lutte est basée sur l'usage de produits chimique de type acaricides pour éliminer le parasite. Ils sont très efficaces, mais dénombre de nombreux désavantages (**Rosenkranz, 2010**).

Le tableau (**IV**) ci-dessus regroupe l'ensemble des pesticides chimiques autorisés dans l'union européenne 2017 (**Williams, 2017**).

Tableau IV : Liste des pesticides chimiques autorisés dans l'union européenne 2017 (Williams, 2017).

Nom	Principe Actif	Mode d'application	Mode de propagation	Période d'application	Propriétés
Mite away Quick Strips(MAQS)	Acide formique	Deux bandelettes sur les barres supérieures de la ruche, de sorte qu'ils soient bien à plat sur toute la largeur du corps de la ruche. Couvrir au moins 6 cadres de couvée l'entrée de la ruche doit être complètement ouverte.	Evaporation	Du printemps à l'automne, même en cas de coulée de miel, les températures dehors doivent être comprises entre 10 et 29,5 ° C le jour de l'application le traitement dure 7 jours.	La température ne doit pas dépasser 29.5 ° C, ou une perte excessive de couvain et de reines peut survenir. très efficace sans période de retrait, tue les acariens dans les couvains scellés.
Bayvarol® (Bayer)	Flumethrin	Bandes en plastique à mettre entre les cadres une fois par semaine pendant 6 semaines.	Contacte.	Automne ou début du printemps pendant 6 semaines.	Très efficace >95%, produit semblable au Apistan pour pouvoir être utilisé en alternance. Résidus dans la Propolis.
Apistan® (Vita Europe)	Tau-fluvalinate	Bandes en plastique à mettre entre les cadres pendant 42 jours	Contacte.	Automne ou début du printemps pendant 6-8 semaines.	Très efficace >95%, produit semblable au Bayvarol pour pouvoir être utilisé en alternance. Résidu dans le miel, la cire et la Propolis.

Apitraz (laboratoires Calier)	Amitraz 500 mg	Une bande entre le 5ème et le 6ème cadre, l'autre entre le 9ème et 10ème cadre à couvain, les retirer après 6 semaines.	Contacte systémique.	Fin de l'été après la miellée ou début du printemps pendant 6 semaines	Efficacité de 95% un contact de surface plus important que les autres bandes imprégnées du marché, Pas de résidus dans le miel
PolyVar Yello275mg(Bayer)	Flumethrin	Deux rubans par colonie pendant au moins 9 semaines. De préférence après l'extraction du miel pour assurer une activité de vol. Ne pas dépasser 4 mois.	Contacte systémique.	Automne ou début du printemps pendant 9 semaines.	Traitement global de toute les ruches en même temps pour éviter le développement d'une résistance au produit, ne pas utilisation plusieurs années de suite.
Apivar® (Biové)	Amitraz	Une bande de plastique entre les cadres de couvain	Contact Systémique	Automne ou début de printemps pendant 6 semaines.	Efficacité 90 – 99% .Pas de résidus dans le miel augmente la mortalité chez les larves et adultes.
Perizin® (Bayer)	Coumaphos	Solution coulé sur les abeilles. Traiter deux fois par semaine pendant 6 semaines.	Contact systémique	Fin Automne, hiver et périodes sans couvains.	Efficacité a 85 – 99% Utilisation en période sans couvain. Résidus sur le miel et la cire
Lactic acid (generic)	Solution Acide Lactique	Une solution acide vaporisée sur des couvains d'abeilles	Evaporation	Hiver pendant la période sans couvain	Efficacité 41- 99% Nécessite des conditions sans couvain, provoque des brûlures de la peau irritant des voies respiratoires

9.1.1 Avantages des pesticides Chimiques :

Si les pesticides chimiques ont un grand ceci est grâce à leur utilisation facile généralement, avec un mode d'application claire et précis. Ils sont également économiques du point de vue coût (**Rosenkranz, 2010**).

9.1.2. Inconvénients des pesticides chimiques :

Avoir autant d'efficacité lors de l'usage des pesticides chimiques n'est pas sans prix, En effet de nombreuses conséquences dues à l'application de pesticides ont été relevées.

Une Accumulation des résidus de pesticide dans les produits d'abeilles (**Lodesani et al. 2008; Martel and al., 2007; Nasr et Wallner, 2003; Schroeder et al., 2004 ; Wallner, 1999**), que ça soit le miel ou la cire (**Bogdanov et al., 1998 ; Wallner, 2000**), les polluants persistent même après un recyclage des produits (**Rosenkranz, 2010**) pire encore les concentrations augmentent avec l'augmentation des répétitions du traitement.

Vient s'ajouter à cela, l'effet des traitements sur le comportement des abeilles (**Johnson, 2009 ; Wallner, 2005**), ces dernières peuvent subir des troubles et une désorientation et nuire à leur développement. Dans certains cas, les apiculteurs observent une résistance chez le parasite ce qui a pour conséquences l'échec du traitement (**Fries, 1989 ; Sammataro et al., 2005 ; Elzen et al., 1999 ; Trouiller, 1998 ; Thompson 2002**).

Suite à l'apparition de l'ensemble de ces inconvénients qui ne sont pas négligeables, il a fallu introduire de nouvelles alternatives à ces produits qui offrent une bonne efficacité et moins de désavantages (**Lodesani, 2004; Milani, 2001b**). Parmi les propositions, il y a les acides organiques, ainsi que les huiles essentielles qui voient leur demande augmenter de jour en jour d'après des apiculteurs et spécialement dans les colonies biologiques (**Calderone, 1999; Calderone et Nasr, 1999; Charriere et Imdorf, 2002; Della Vedova et Milani, 1999; Fries, 1989; Kraus et al., 1994; Milani, 2001a; Nanetti et al., 2003; Rademacher et Harz, 2006; Skinner et al., 2001; Van Engelsdorp et al., 2008**).

9.2. Méthodes biologiques :

C'est une méthode de lutte alternative aux produits chimiques, elle est basée sur l'utilisation de produits d'origine naturels, comme des huiles essentielles ou des acides organiques (**Rosenkranz, 2010**). Plus loin encore certaines utilisent des organismes vivants afin d'éliminer le pathogène (**Rangel et al., 2018**).

Le tableau V ci-dessus regroupe l'ensemble des bioproduit autorisés dans l'union européenne pour lutter contre le Varroa 2017 (**Williams, 2017**).

Tableau V : l'ensemble des bioproduits autorisés dans l'union européenne pour lutter contre le Varroa 2017 (Williams, 2017).

Nom	Principe Actif	Mode d'application	Mode de propagation	Période d'application	Propriétés
Apiguard® (Vita Europe)	Thymol (terpene)	Deux applications successives de 50 g de gel par colonies à 2 semaines d'intervalles. Deux fois par an.	Evaporation Contact Ingestion	Utiliser à la fin de l'été après la récolte du miel ou en printemps lorsque la température est supérieure à 15°C	54 -98% d'efficacité selon la température et l'activité des abeilles. Lors de l'utilisation s'assurer que les sols en grilles soient fermés et que le couvercle soit couvert des rayons du soleil. Résidus sur le miel.
Apilife-VAR® (LAIF)	Thymol, eucalyptol, menthol, camphor	Une plaquette tous les 07 jours pendant 3 semaines. soit un sachet et demi par ruche.	Evaporation	Utilisation fin d'été après la récolte du miel, température entre 18°C et 28°C	Efficacité à 70-90% selon les conditions optimales. Sans résistance et sans risque, utilisation facile non toxique, ne pas utiliser avec d'autres acaricides. Résidus sur le miel.
Thymovar	Thymol 15g	Dépôt des plaquettes directement dans les cadres à 4 - 10 cm du couvain, dure 3 à 4 semaines.	Evaporation	Après la récolte du miel, vers la fin de l'été. Température optimal 20- 25°C	Pas de délai d'atteinte pour le miel, un traitement long terme avec protection contre une ré-invasion. Non utilisable pendant l'écoulement du nectar. Une overdose entraine la mort des abeilles.
Api-Bioxal (Chemicals Laif)	Acide oxalique déshydraté	Verser 35 g de poudre dans 500 ml de sirop (eau et saccharose) pour le traitement de 10 ruches. 5ml doit être administré en une seule fois par cadre, limite à 50 ml par ruche.	Evaporation Contact	Période sans couvain en hiver	90-95% d'efficacité, toutes les colonies doivent être traitées simultanément. Toxique pour l'utilisateur, augmentation de la mortalité des abeilles en cas de double traitement. Temps d'atteinte miel 0 jours, non applicable en période de récolte de miel.

Bellovar®	<i>Stratiolaelaps scimitus</i> (parasite)	Etaler le produit dans une barquette puis introduire au fond de la ruche, le produire dure 45 jours.	Contact	En hiver a basses température couvain fermé.	Produit complémentaire a d'autres acaricides, aucune résistance, élimine les parasites résistants. Produit saint de la ruche, pas de risque de surdosage.
Oxovar (Bio vet)	Acide oxalique déshydraté a 3.5%	Verser 275 g de produit avec 275 g de produit, (15 ruches), dégouter directement sur les abeilles.	Evaporation Contact	En hiver, période sans couvain uniquement, température comprises entre – 15 et +5 °C lorsque les abeilles sont regroupées en grappe.	90- 95% d'efficacité. Traitement de contrôle sur l'ensemble des colonies, n'affecte pas les varroas dans les couvains operculés. Toxique pour l'utilisateur, pas de délai d'atteinte pour le miel.

9.2.1. Avantage des méthodes biologiques :

Parmi les nombreux avantages de la lutte biologique, c'est l'absence de résidus dans les produits de la ruche (**Bogdanov, 2006; Bogdanov et al., 1998, 2002; Floris et al., 2004**). Vient s'ajouter à cela le fait que les parasites ont très peu de chance de développer une résistance au traitement. Egalement le grand écart qui existe entre la dose létale de parasite et la tolérance de l'abeille au produit ce qui réduit le taux de mortalité des abeilles (**Rosenkranz, 2010**).

9.2.2. Inconvénient des méthodes biologiques :

Certains traitements nécessitent des précautions particulières à titre d'exemple l'acide lactique et l'acide oxalique qui doivent être appliqués sans couvain (**Emsen et Dodoglu, 2009 ; Higes et al., 1999**) grand inconvénient pour les régions à hiver prolongé. Egalement l'efficacité des produits dépend du mode d'admission, ce qui réduit les résultats optimaux en plus de l'influence des facteurs climatiques. La dose toxique pour le parasite est généralement proche à celle de seuil de tolérance de l'abeille (**Bolli et al., 1993; Higes et al., 1999; Martin-Hernandez et al., 2007; Mattila et al., 2000**).

En plus des produits biologiques commercialisés, il existe d'autres produits traditionnels appliqués pour lutter contre le parasite. Leur efficacité n'est pas négligeable (**MAF, 2001**).

Tableau VI : Produits traditionnels utilisés dans la lutte contre le Varroa (MAF, 2001).

Produit	Application	Propriété
Les huiles végétales (Kraus et Page, 1995 ; Whittington et al., 2000)	Verser des gouttes d'huiles végétales dans un papier filtre puis mettre dans la ruche.	Efficacité de 38% à 88% sans émulsifiant.
Les huiles végétales associés à un émulsifiant (Brødsgaard et al., 1994)	Pulvérisation directe des huiles végétales à forte teneur en émulsifiant sur les abeilles	Efficacité 97% mais taux de mortalité des abeilles supérieur à 50%
Huile végétale de Colza associé à un émulsifiant (Bogdanov et al., 1998)	Pulvérisation de la Solution à 20% d'huile de Colza avec un émulsifiant faible dose	Efficacité à 65%
Huile végétale de Neem (Melathopoulos et al., 2000a, 2000b)	Pulvérisation de l'huile de Neem avec un émulsifiant (2% de Tween) à raison de 400 ml par ruche	Efficacité de 50-90% sur le Varroa après 48h, taux de mortalité des abeilles inférieur à 10%
Huile végétale de Gaulthérie couchée (Hoppe, 1990)	Huile est pulvérisée sur les cadres sans couvain à raison de 5 ml par ruche.	Efficacité de 55-82% sur le parasite lors du premier essai, 90-95% lors du deuxième traitement 7 jours après avec 31% taux de mortalité des abeilles.

Huile minérale (Le Conte et al., 1998)	Pulvérisation d'une solution à raison de 6 -10 ml d'huile minérale (Paraffine) avec un émulsifiant (5% Tween) par cadre en Automne une fois par semaine, 3 répétitions.	Efficacité à 97% lors du deuxième traitement, 99.5% après le 3eme. Augmentation de taux de mortalité des abeilles.
Propolis (Garedew et al., 2003)	Extrait à 4% chauffé à 40°C	Effet létale, entraîne la mortalité de la totalité des parasites et 68% uniquement en présence de chaleur.
Sucre glacé (Macedo et al., 2000 ; Fakhimzadah , 2000 ; Ramirez , 1994 : Logio et Pinessi, 1991)	Le sucre est saupoudré entre les cadres du rucher a raison de 15 g par ruche le traitement est répété 4- 6 fois.	La moyenne des acariens tombés sur les colonies traitées était entre 47- 56 fois plus grande que les colonies témoins.

9.3. Méthodes biotechnologiques :

Ce sont des moyens de lutte qui ne sont pas obligatoirement chimiques ou biologiques, ils sont applicables avec les traitements et permettent de réduire l'infestation des rucher par le parasite (Goodwin et Eaton, 1999) ils prennent en compte la biologie de l'hôte et du parasite pour traiter (Rosenkranz, 2010).

Tableau VII : Liste des techniques de lutte biotechnologique répondue (Goodwin et Eaton, 1999).

Nom	Procédé	Propriétés
Plancher grillagés	Installation d'une grille métallique dans le fond du rucher pour empêcher la remonté des parasites vers les abeilles	20 % de la population du Varroa tombe dans le fond de la ruche, causée généralement par le nettoyage des abeilles.
Traitement thermique	Traitement du couvain une fois que les abeilles ont été retirées. Il est chauffé dans un incubateur à 44°C pendant 4h	Elimination de la totalité des acariens même ceux dans les couvains operculés, perte de 5% seulement des couvains dans le processus et possibilité de malformation des abeilles issus des couvains traités.
Changement de la taille des cellules	Changement de la taille des cellules avec combinaison de cadre a bourdon pour réduire considérablement la population du parasite.	Le varroa préféré les bourdons aux travailleuses, dans cette technique ils piègent le varroa dans des cadres a taille réduite pensant que c'est des cadres mâles.

Réduction des couvains de bourdons	Réduction des couvains à bourdons	La reproduction du varroa est beaucoup plus élevée chez le couvain à bourdon. En réduisant la quantité de couvains mâle, on ralentit l'infestation.
Piégeage dans le couvain mâle (Ballis, 2010)	Durant la période dans laquelle les abeilles sont capables de développer un couvain mâle, utiliser un cadre piège qui sera bâti et pondu par les abeilles, une fois operculée il est éliminé. Il est impératif de ne pas laisser le couvain naître.	C'est une méthode efficace pour ralentir l'infestation en attendant la période de traitement de fin de saison. Nécessite peu de travail et n'affecte pas la production de miel

9.3.1. Avantage des méthodes biotechnologiques :

Ils soulagent la forte demande en produit acaricides, ne comportent pas de résidus et aucun risque de développer une résistance chez le parasite (**Goodwin et Eaton, 1999**). Selon le type de méthode, certains traitements ne coûtent pas d'argent et donc c'est un gain économique dans le contrôle comme les pièges à couvain mâle (**Engels et al., 1984; Maul et al., 1988**).

9.3.2. Inconvénients des méthodes biotechnologiques :

Seuls ils ne sont pas complets et sont souvent appliqués comme traitement complémentaire aux acaricides (**Goodwin et Eaton, 1999**).

Pour réduire les pertes économiques dues au *Varroa destructor* tout en gardant un contrôle de l'infestation des colonies, plusieurs traitements doivent être associés et adaptés aux conditions environnementales (**Amdam et al., 2004; Martin, 2001**) cela réduirait également le risque d'apparition de résistance. Le tout en suivant le protocole sanitaire imposé par la législation, car à ce jour-là, nous n'avons pas de traitement efficace et sans aucun danger sur les abeilles (**Rosenkranz, 2010**).

Chapitre 03 : La plante utilisée *Thymus vulgaris*.

1. Généralités sur les Lamiacées :

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghbi et al., 2005**). Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites tel que le thym le romarin ; sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses (**Botineau, 2010**). Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal.

2. Présentation de la plante utilisée *Thymus vulgaris* :

Le nom du thym vient du grec *thumos*, qui signifie odeur. Plante sacrée, très recherchée dans l'antiquité, le thym était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs. Le thym est originaire du bassin méditerranéen, il existe plusieurs espèces de ce genre dans le monde, et sur celles qui sont actuellement connues, l'espèce *Thymus vulgaris* est toutefois la plus répandue. Au Maghreb, on dénombre autres telles que : *Thymus numidicus*, *Thymus pallescens*, *Thymus ciliatus*, etc. (**Richard, 1992**).

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes (**İzcan et Chalchat, 2004**) et aussi autochtone du sud d'Europe (**Takeuchi et al., 2004**). Il colonise le territoire de l'Algérie avec 12 espèces (**Dob et al., 2006**).

3. Classification :

Tableau III : Classification de *Thymus vulgaris* (**Quézel, 1963**).

Règne :	Plantae
Sous-règne :	Tracheobionta
Embranchement :	Magnoliophyta
Sous-embranchement :	Magnoliophytina
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	Thymus
Espèce :	<i>Thymus vulgaris</i>

4. Description botanique :

Le thym est une plante sous-ligneuse elle peut atteindre les 45cm avec des tiges verticales, les branches sont persistantes et les feuilles sont aromatiques et recouvertes de glandes et les fleurs sont colorées avec une couleur violette pâle à deux lèvres avec un calice glandulaire (**Charles, 2012**).

Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocailleux et dans les garrigues. Les feuilles du thym sont plus au moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui est tubuleux (**Quezel et Santana, 1963**).



Figure 08: *Thymus vulgaris* (Originale).

5. Répartition géographique :

Le thym est une plante qui est très répandue dans le bassin méditerranéen : Maghreb, France, Espagne, Italie. Aussi dans les montagnes d'Arabie du Sud-ouest et dans la péninsule de Sinaï en Égypte. Le thym pousse également en Sibérie et en Europe du Nord (**Jalas, 1991**).

Le thym est une plante répandue en Algérie, les différentes espèces qui y existent sont réparties le long du territoire national, du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du Constantinois à l'Oranais (**Kabouche et al., 2005**).

6. Propriétés du thym :

Les espèces de plantes aromatiques du genre *Thymus* sont des plantes médicinales importantes en raison d'une gamme de propriétés thérapeutiques de leur huile essentielle (**Panizzi et al., 1993**). Anti-hématologique, antiseptique, antispasmodique, antimicrobien, (Rasooli et al. 2006), cardiaque, carminatif, diurétique et expectorant (**Nikolić et al., 2014**), des propriétés vermifuges et vermicide (**Bazylko et Strzelecka, 2007**), anthelminthiques (**Al-Bayati, 2008**), antioxydants (**Takeuchi et al., 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008**), propriétés antifongiques (**Pinto et al., 2007**) et l'activité anti-inflammatoire contre les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (**Bourkhiss et al., 2010**).

7. Huile essentielle du Thym :

La composition chimique de l'HE de thym comme celles d'ailleurs des autres plantes aromatiques dépend de plusieurs facteurs tels : la génétique de la plante, l'âge, les conditions édaphoclimatiques et la saison de cueillette, l'environnement.

8. Localisation des huiles essentielles :

Généralement les huiles essentielles se localisent dans toute la plante, et sont stocker dans des glandes sécrétrices (**Bruneton, 1999**). Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (bergamotier, rose, ...), les sommités fleuries (tagète, lavande, menthe, ...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, ...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma, ...), les fruits (poivres, ...), le bois (bois de rose, santal, camphrier, ...), ou les grains (muscade, ambrette). Pour le Thym, les glandes sont localisées au niveau des feuilles (**Bou djemaa et Ben Guegua, 2010**).

9. Variabilité des huiles essentielles :

La composition d'une huile essentielle dépend avant tout d'une série de facteurs propre à la plante et à son environnement de culture on peut citer :

- **Espèce et variété :**

Il est évident que l'utilisation du nom scientifique de la plante est indispensable tant les exemples de confusions.

- **Partie de la plante utilisée :**

Lorsque l'on désigne une huile essentielle, il convient également de préciser de quelle partie de la plante elle est extraite. En effet, l'organe producteur influe sur le rendement d'extraction.

- **Facteurs environnementaux :**

Température, humidité, durée, ensoleillement, vents, nature du sol... sont facteurs peuvent ainsi faire grandement varier la quantité et la qualité de l'huile essentielle produite (**Fernandez X et al., 2012**). Les conditions environnementales auxquelles la plante est exposée jouent sur l'expression des gènes de la plante et vont ainsi modifier le développement de la biomasse et sur l'aiguillage de chaque voie métabolique, tant pour le métabolisme primaire que secondaire et sur les transformations secondaires. (**Bruneton J et al., 2009**).

- **Période de récolte et cycle végétatif :**

La connaissance des variations au cours du cycle végétatif de la plante permet de sélectionner le moment le plus opportun pour la récolter (**Faucon M, 2012**). Ainsi on peut cueillir la plante, à différent stades, périodes ou saisons dans le but d'obtenir une quantité optimale de métabolites secondaire. Une étape non réglable, sui s'enchaîne avec d'autres afin d'avoir un maximum d'huile essentielle lors de l'extraction.

- **Chémotype :**

Le terme chémotype permet de distinguer ces types chimiques présents dans une huile essentielle de deux plantes identiques, morphologiquement et génétiquement.

10. Fonctions biologiques des huiles essentielles:

Grace aux huiles essentielles, les plantes peuvent s'adapter à leurs environnements, et avoir un moyen de défense contre divers agents. Elles interviennent dans les interactions plante plante dans la germination, la croissance et la signalisation. Tout en les protégeant contre les prédateurs dans une interaction plante animale (**Ormeno, 2007 ; Fouche et al., 2008**).

11. Utilisation :

En raison de sa saveur aromatique, le thym provoque une stimulation réflexe des sécrétions salivaires, gastriques et biliaires. Il est ainsi utilisé pour ses propriétés régulatrices de l'appétit et comme stimulant digestif.

Des extraits de thym ainsi que son huile essentielle sont fortement antimicrobiens. Tous les chimiotypes sont actifs, mais l'activité bactéricide est plus marquée pour les types à thymol et à carvacrol (**Teuscher et al., 2005**).

12. Les huiles essentielles autant que bio pesticide :

L'utilisation des insecticides chimique pour contrôler les ravageurs des différentes cultures a beaucoup d'avantages mais il restent très toxique pour les consommateurs notamment l'Homme tout en étant nocif pour l'environnement, C'est pour cela que plusieurs produits ont été retiré du marché mondiale et remplacé par des produits biologiques (**Singh et al., 1980**).

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ou pas injection, fumigation a été bien démontré, plusieurs études ont été réalisées sur l'efficacité des huiles essentielles.

Plus intéressant encore, contre *Varroa jacobsoni*, le parasite des abeilles domestiques, plusieurs travaux ont été menées sur l'effet toxique du thymol qui est contenu dans le thym sur le parasite (**Calderone et al., 1997**) Ceci sans laisser des trace même après un traitement répétitif et en période de miellée.

13. Impact sur l'environnement et la santé humaine :

Les huiles essentielles, offrent de nombreux avantages, notamment la sécurité de l'environnement, d'autant plus ils protègent les cultures sans résidus, et dans le cas de la présence d'une trace sur les fruits et les légumes, ils donne un effet bénéfique sur la santé humaine (**Huang et al., 1994**).

14. Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont une toxicité grave par voie orale, n'était pas destiné à la consommation orale a de forte doses, il faut respecter les doses lors de chaque usage.

Elles sont déconseillées pour les femmes enceintes, et l'application directe sur la peau sous risque d'avoir une irritation.

15. Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont composés de molécules très volatiles, et sensible à la lumière (Bruneton, 1993) les 03 majeurs facteurs qui interviennent dans l'altération des huiles essentielles sont :

- **La température :** C'est pour cela qu'il faut les gardés à une température basse entre (08°C et 28 °C).
- **La lumière :** Les stocker à l'ombre ou dans un récipient opaque.
- **L'oxygène :** Le flacon doit être fermé hermétiquement à 4°C.

Sous de bonnes conditions une huile peut être conservée pendant 02 à 05 ans (Benzzeddine, 2010).

16. Extraction de l'huile Essentielle :

Pour séparer les huiles de leurs cellules de stockage, il faut exercer une force, souvent c'est une force thermique, dans d'autres c'est une action chimique, voici les méthodes d'extraction des huiles les plus réponsus.

- **Hydrodistillation :**

Selon **Hajji (1985)** elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Lors de la distillation des huiles essentielles, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètre sur la qualité et le rendement.

L'outil le plus utilisé dans cette méthode, est le montage Clevenger, Portant le nom de son inventeur, Joseph Franklin Clevenger, crée en 1928. Il repose sur un ballon qui contient de l'eau que l'ont fait bouillir en même temps que la plante. La vapeur se condense ensuite et s'accumule dans une burette, l'huile plus légère flotte, et l'hydrolat retourne progressivement dans le ballon (Alexis St-Gelais, 2014).



Figure 09 : Montage d'extraction de type Clevenger (Alexis St-Gelai, 2014).

Partie II
Matériel et méthodes

1. Objectif :

Le but de notre travail est de proposer un traitement biologique sans effets secondaires afin de lutter contre le varroa qui, actuellement démontre des résistances, et par cette même démarche nous participons à la valorisation de notre patrimoine végétal national.

2. Présentation de la région d'étude:

2.1. Critères de choix du site:

Les ruchers qui ont servi à notre expérimentation répondaient à nos exigences à savoir :

- Climat et végétation favorable à une culture apicole.
- La facilité d'accès aux colonies.
- La présence du parasite *Varroa destructor*.

2.2. Site de déroulement des études:

Notre étude sur le bio contrôle du varroa s'est déroulée au niveau des ruchers expérimentaux installés dans l'institut d'élevage technique de Baba Ali (ITELV). Commune de Birtouta de la wilaya d'Alger. Cette dernière est située dans la plaine de la Mitidja à 20 km au sud du centre-ville d'Alger (**Figure 10**).



Figure 10 : Localisation géographique de l'Itelv (Google maps).

3. Conditions Climatiques:

Le climat est un facteur essentiel dans le développement des colonies d'abeilles mais aussi la végétation d'où ils se nourrissent. Un climat doux est meilleur pour les abeilles, car il est plus favorable à leurs activités tel que la miellée, le butinage et stimule la reine à la ponte.

Au cours de notre travail, les variations climatiques étaient plus ou moins favorables à notre expérimentation. Cette partie de la Mitidja est soumise aux conditions du climat méditerranéen, ce dernier se caractérise par des étés chauds et secs et des hivers doux et humides.

3.1.La température:

Les températures Mitidjiennes sont affectées par l'influence de la mer qui en résulte un décalage. Le mois le plus chaud est aout alors que le plus froid est janvier. Les températures moyennes mensuelles maximales et minimales en degrés Celsius enregistrée en 2018 sont représentées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Températures mensuelles moyennes enregistrées à Baba Ali en 2018 (ONM, 2019).

Mois	Janv	Févr	Mars	Avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Déc
M(°C)	23	19	26	30	20	26	31	32	30	28	23	21
m(°C)	9	4	8	8	11	15	19	23	22	17	10	11
Moy	16	11.5	17	19	15.5	20.5	25	27.5	26	22.5	16.5	16

- **M** : Moyenne mensuelle des températures maximale.
- **m** : Moyenne mensuelle des températures minimal.
- **Moy** : $(m + M) / 2$ Moyenne mensuelle.

D'après le tableau, le mois le plus chaud est Aout avec une température moyenne mensuelle de 27.2 °C, tandis que le mois le plus froid est Février avec une température moyenne mensuelle de 11.5. D'après ces informations on considère que c'est la période d'hivernation pour les abeilles.

3.1.Condition climatiques durant la période d'expérimentation :

Un des paramètres fondamentaux à notre expérimentation était la température, nous avons donc veillé à mesurer les différentes variations durant toute la période d'expérimentation (4 semaines).

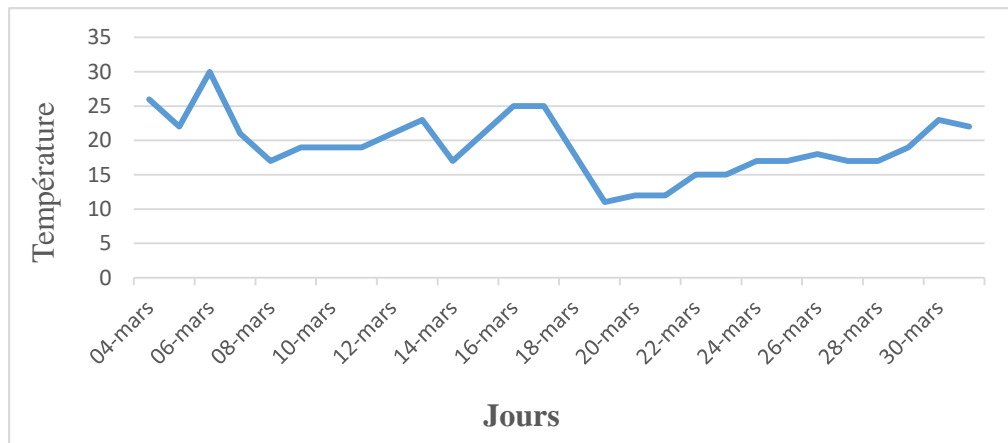


Figure 25 : Conditions climatiques journalière moyenne relevées durant la période 04/03/2019- 31/03/2019 (ONM , 2019)

4. La flore de la zone d'études :

Elle se caractérise par la présence de nombreuses plantes mellifères et pollinifères, notamment la moutarde des champs, la carotte sauvage, lavande, la bourrache, melilat, bruyère et la sinapis. Cette dernière constitue un apport alimentaire non négligeable pour les abeilles.

Cette zone se caractérise par une diversité de flore mellifère favorisant ainsi une bonne production apicole



Figure 11 : Type de végétation près des ruches à l'ITELV (Originale).

5. Présentation des ruches d'études :

Le rucher se trouve dans un grand espace vert, est entouré par les arbres d'eucalyptus et de cyprès.

La disposition des ruches citée ci-dessous facilitera le travail de l'apiculteur et lui évitera de se faire piquer en gênant l'entrée de ruches aux abeilles.



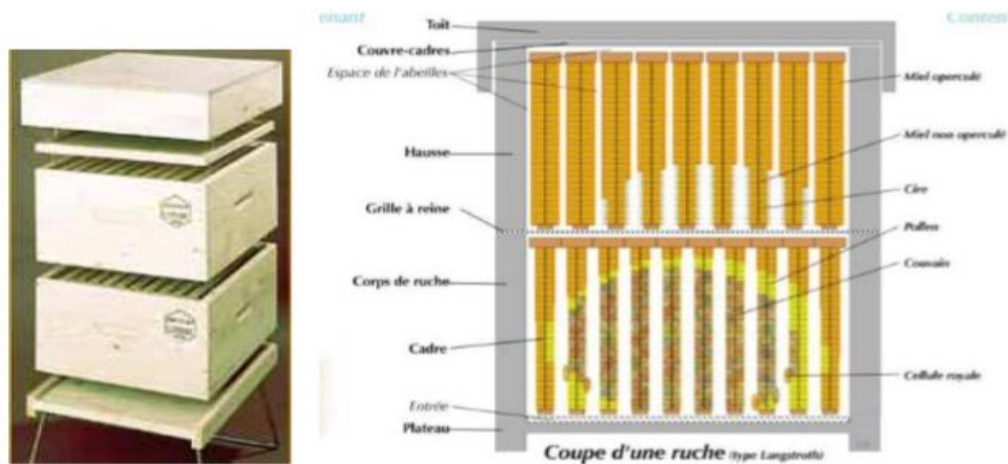
Figure 12 : Disposition des ruches sur le site d'expérimentation (**Originale**).

Chapitre 01 : Matériel.

1. Matériel apicole :

• **Ruchettes :**

Pour bien mener notre étude ; les ruches mises à notre disposition sont de modèle Langstroth ; le type le plus répandu en Algérie. Elles sont au nombre de 40 ruches réparties en 4 lots. Chaque ruche est constituée de 10 cadres elle se compose d'un plateau réversible formant un trou de vol sur toute la longueur. Sur ce plateau, est posé un seul corps qui contient dix cadres, au-dessus de la hausse il y a le couvre cadre qui empêche la sortie des abeilles et enfin le toit qui recouvre la ruche.



Ruche Langstroth sur deux éléments sur son socle avec couvre cadre et toit plat en tôle

R. Hummel & M. Feltin - 2014

Figure 13 : Composition d'une ruche d'abeille (R.Hummel et M.Feltin, 2014).

Il existe deux types de ruche, Le type Dadant et le type Langstroth. Cependant malgré leurs légères différences ils s'associent dans les points communs suivant :

- Généralement, une ruche se présente sous la forme d'un montage de panneaux de bois d'assemblés pour constituer une caisse. Les abeilles bâtissent des cellules hexagonales sur des cadres mobiles pour le stockage de la nourriture (miel et pollen), et pour le renouvellement de la population (œufs, larves et nymphes).
- **Cadres :** Ils possèdent cadres mobiles qui sont insérés dans la ruche pour organiser l'habitat, ce qui permet à l'apiculteur de facilement contrôler et observer les abeilles et aux abeilles de construire leurs nid.

- **Le fond ou plateau** : qu'ils soient aéré ou remplis équipé d'un grillage, il constitue le bas de la ruche; il est prolongé à l'avant, ce qui assure aux abeilles une piste d'envol, il permet aussi de fixer une lange qui en période d'observation, on détecte la présence ou pas de Varroa, et parfois de fixer des traitements pour éliminer le parasite.
- **Le corps** : est la plus grande caisse dans une ruche, à l'intérieur les abeilles vivent et se réfugient en période hivernale.
- **La hausse** : c'est le grenier à miel, ce sont les réserves de nourriture que font les abeilles. C'est également là que l'apiculteur récolte le miel. Suivant la saison, plusieurs hausses peuvent être mises en place sur le corps de ruche.
- **Le couvre-cadres** : est une planche assurant principalement la fermeture hermétique du dessus de la ruche et constitue un élément d'isolation.
- **Le toit** : est souvent en bois surplombé d'une tôle en métal.

- **Outils et équipement apicole** :

Une grille métallique : c'est un grillage métallique ayant les mêmes dimensions que les langes ; permet de piéger les varroas qui tombent accidentellement sur les langes et la rétention des abeilles et des gros débris de la ruche.

Les langes : sont des lames en polyéthylène (PVC) ; en métal ou en carton qui couvrent la surface du plancher de la ruche : leur largeur est inférieure à celle du plancher afin qu'elles puissent glisser facilement, les déchets de la ruche ainsi que les Varroa sont déposés à sa surface.

Un lève cadre : c'est une barre en fer qui sert à décoller les cadres de la ruche que les abeilles ont soudés avec la propolis.

Un enfumoir : instrument produisant une sorte de fumée blanche abondante, utilisée pour masquer les phéromones des abeilles pour qu'elles ne deviennent pas agressives et les pousser à quitter le nid pour un court instant, il est alimenté par des vieilles feuilles sèches, l'odeur de la fumée force les abeilles à se déplacer comme si c'était un incendie. .

Gants, bottes et combinaison : Equipement obligatoire pour la protection lors des manipulations, d'autant plus que cette espèce d'abeille domestique est extrêmement agressive.



Figure 14 : Matériel apicole nécessaire (www.api-culture.fr).



Figure 15 : Langes en métal (Originale)

2. Matériel animal :

Nous avons utilisé des abeilles domestiques *Apis mellifera* ainsi que l'espèce ciblée par notre étude le parasite *varroa destructor*.

3. Matériel végétal :

Nous avons utilisé l'huile essentielle extraite à partir de la plante *Thymus vulgaris* le thym.

Tableau IIX : Plante utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle.

Nom commun	Nom scientifique	Famille	Origine
Thym – Zaaâter -	<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	Blida

4. Matériel non biologique :

- **Huile de table** : le graissage s'est fait par l'huile de table de couleur claire qu'on étale à l'aide d'une éponge sur les langes. Les langes graissés retiendront ainsi les varroas tombées, ils s'englueront et ne pourront plus remonter, aussi il empêche les abeilles de nettoyer tous débris trouver sur ces derniers.
- **Graisse animal** : excipient utilisé pour notre formulation du traitement, ayant la capacité de retenir l'huile, et de la diffusé lentement.
- **Abaisse langues en bois** : Nous avons décidé d'utiliser un support en bois afin de rendre l'ensemble du traitement non seulement biodégradable et naturel, mais également inerte a

toute interaction avec les abeilles, en veillant à rendre tout éléments introduit dans la ruche similaire à son environnement.

- **Propolis** : Apres son traitement de l'état brute, nous avons utilisé l'extrait de propolis dans notre formulation.
- **Ethanol 70°** : Ingrédient essentielle mélangé avec la propolis.
- **Bayvarol** : Nous avons effectué la partie traitement chimique avec des lanières en plastique de la marque de Bayvarol avec qui nous allons le comparé avec le traitement biologique.



Figure 16 : Traitement contre le varroa BAYVAROL (Original).

5. Matériel du laboratoire :

Pour effectuer nos essais, nous avons utilisé des béchers, une plaque chauffante, une filtre en fibre de céramique, une pompe à vide, un rota vapeur, un ciseau, une balance, une micropipette, des tubes opaques, des ballons, des boites de Pétri, une loupe, un diapositive Clevenger équipé de chauffe ballon réglable, un ballon fond rond d'un litre, un col de cygne, une allongue, un réfrigérant droit, un Erlen Mayer graduée, un support et une pompe à eau.

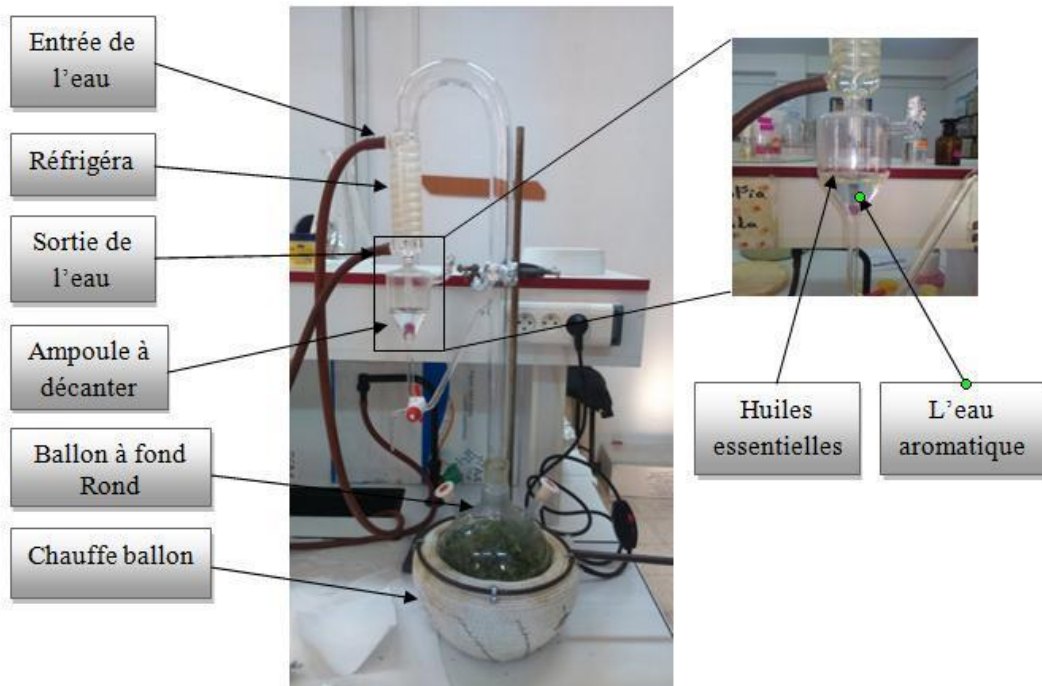


Figure 17 : Diapositive Cleavenger (Gaidi et Goucem, 2017).



Figure 18 : Préparation du matériel végétale dans le ballon (Feuilles + eau) (Originale).

Chapitre 02 : Méthodes.

1. Méthode de récolte du Thym :

Le Thym utilisé a été récolté au mois de Janvier 2019 des montagnes de Chrea. Il a été séché au soleil afin d'optimiser le rendement.

2. Protocole expérimentale d'extraction des huiles essentielles :

Nous avons utilisé la distillation à la vapeur d'eau pour extraire les huiles essentielles des feuilles du Thym. Nous avons émergé 30 g de feuilles de Thym dans 600ml d'eau distillée en veillant à ne pas dépasser les $\frac{3}{4}$ du ballon. , l'ensemble est porté à ébullition pendant une durée de deux heures.

On dépose le ballon sur la source de chaleur et on raccorde à la verrerie du Clevanger. Après une heure et demie sous ébullition, les cellules sécrétrices contenant de l'huile essentielles éclatent et libèrent les composés dans le circuit fermé du Clevanger. Les vapeurs hétérogènes (eau + molécules aromatiques) sont condensées en passant dans un serpentin du réfrigérant et redeviennent liquide et recueilli dans une ampoule à décanter à robinet (**Khadri S, 2009**).

On observe ensuite petit à petit, la condensation au niveau du réfrigérant et la formation de gouttelettes jaune. Qui est d'abord plus légère que l'eau, mais qui devient plus lourde à mesure que la distillation avance. Ceci qui permet à l'huile de descendra au-dessous de l'eau.

A l'aide d'un robinet en bas, on récupère l'huile essentielle qu'on garde dans un flacon opaque, fermé hermétiquement dans le réfrigérateur à 4°C.



Figure 19 : Hydro distillation par Clévenger méthode employé pour l'extraction de l'huile essentielle du thym, dispositif, phase ébullition de l'eau et observation de l'huile essentielle flottante (**Originale**).

3. Rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle dépend principalement du poids de la masse d'eau présente, ainsi moins d'eau est contenu dans les feuilles, plus le rendement sera meilleur pour une même masse de feuilles de Thym (**Kaid slimane, 2004**).

$$R = \frac{M1}{M2} \times 100.$$

R : rendement en huile essentielles exprimé en %.

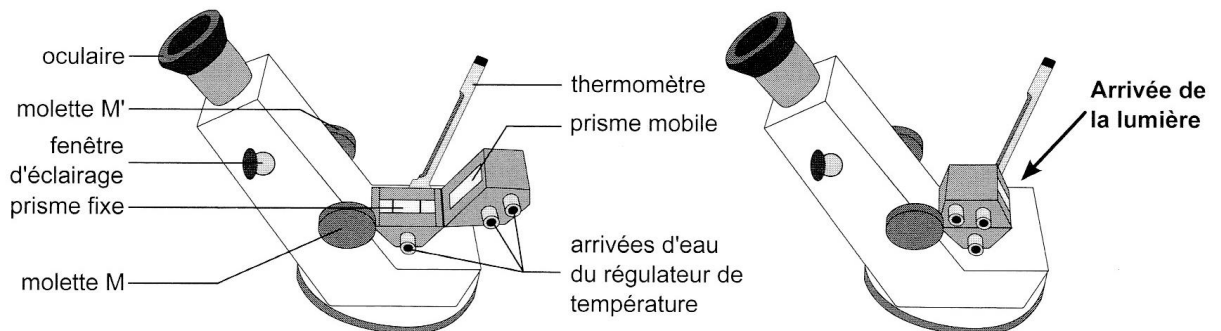
M1 : masse des huiles essentielles en gramme.

M2 : masse d'échantillon en gramme.

4. Test de pureté de l'huile essentielle :

Pour s'assurer de la pureté de l'huile essentielle de thym on a utilisé un réfractomètre pour calculer son indice de réfraction. Elle est effectuée à l'aide d'un réfractomètre de type ZuZi permettant la lecture directe des indices de réfraction situés entre 1,3000 et 1,7000 à une température de référence de 20 °C.

Les rayons lumineux se réfractent en passant d'un milieu à un autre, ainsi lorsque les rayons de lumière passent sur l'huile essentielle à une température constante, un indice de réfraction est donnée, celui-ci une fois comparé à un échantillon référence nous ainsi a déterminé la pureté de notre huile essentielle le processus de distillation.



Un modèle de réfractomètre d'Abbe. À gauche : vue ouverte. À droite : vue fermée avec direction d'arrivée de la lumière dans le prisme mobile.

Figure 21 : Diagramme d'un Réfractomètre (**Hyppolyte auger, 2018**).

5. Choix des doses :

Durant la discussion sur le choix de la dose, nous nous sommes basés sur des travaux présidents, notamment sur les travaux de l'activité biologique des huiles essentielles de Mme Bendifallah publié en juin 2018.

Ensuite, nous avons réalisé des essais au niveau des ruches expérimentales de l'université de Blida, étant hautement infectée par le parasite et mal traité afin d'évaluer l'effet de notre traitement avant application directe sur les ruchers de l'ITELV. Les résultats ont été scrupuleusement observés, adaptés aux types de ruchers de l'institut par l'ajustement des doses selon le volume (cm³) des ruchers afin d'optimiser l'action du traitement.

6. Test de toxicité sur les abeilles :

Avant d'appliquer les concentrations finales sur les ruchers, nous avons réalisés des essais sur 03 lots de 5 abeilles chacun pour 3 concentrations expérimentales d'huiles essentielles.

Chaque lot qui contient 5 abeilles a été déposé dans une boîte d'un volume de 1500 cm³ et recouvert d'une mousseline pour ne pas les laisser s'échapper les abeilles, tout en laissant l'air passer.

Pour chaque lot nous avons introduit un morceau de papier absorbant que nous avons imbibé d'une dose d'huile essentielle et laissé diffuser pendant 20 min.

Tableau IX : Concentrations des huiles essentielles utilisées pour le test de toxicité sur les abeilles.

Concentration	Concentration2	Concentration 3
5µl	25µl	50µl

7. Test de toxicité de l'huile essentielle sur le Varroa :

Bien évidemment, nous avons procédé à un test d'efficacité de l'huile essentielle sur le Varroa directement sur une boîte de Pétri en utilisant la dose sélectionnée après le test de toxicité sur les abeilles.

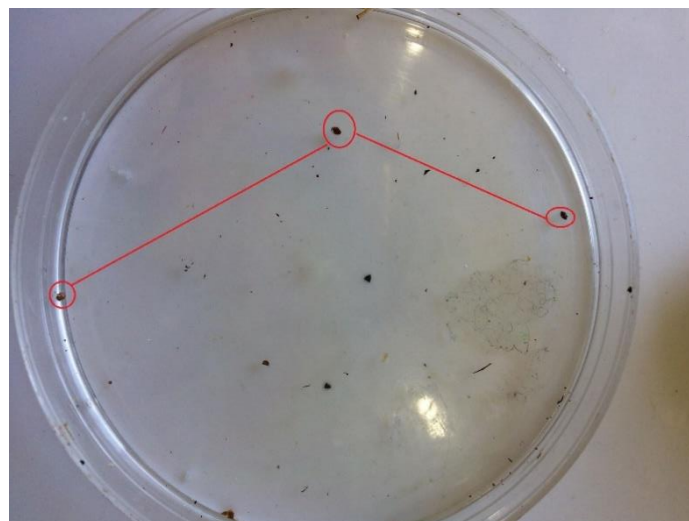


Figure 20 : Varroa mortes exposé à la dose la faible de notre traitement après 12h (Originale).

8. Traitement de la propolis :

En premier lieu, la propolis brute subit un lavage à l'eau chaude, à une température de 60°C. Ensuite l'échantillon est laissé pendant trois semaines dans l'éthanol à 70% sous une agitation continue pendant 3 jours pour obtenir une macération.

Une fois que la propolis en masse se dissout complètement dans l'alcool, on réalise une filtration sous vide qui se fait à l'aide d'un entonnoir filtre qui contient des micros pores en céramique. La solution obtenue contient forcément de l'alcool donc on doit l'évaporer. Par un rotavapeur. Dans cet appareil, le mélange est chauffé jusqu'à évaporation de l'alcool éthylique, récupérer par la suite dans un autre ballon de l'évaporateur. A la fin on récupère l'extrait pur (Scazzocchioun et al., 2006 ; Barbarié et al., 2011)

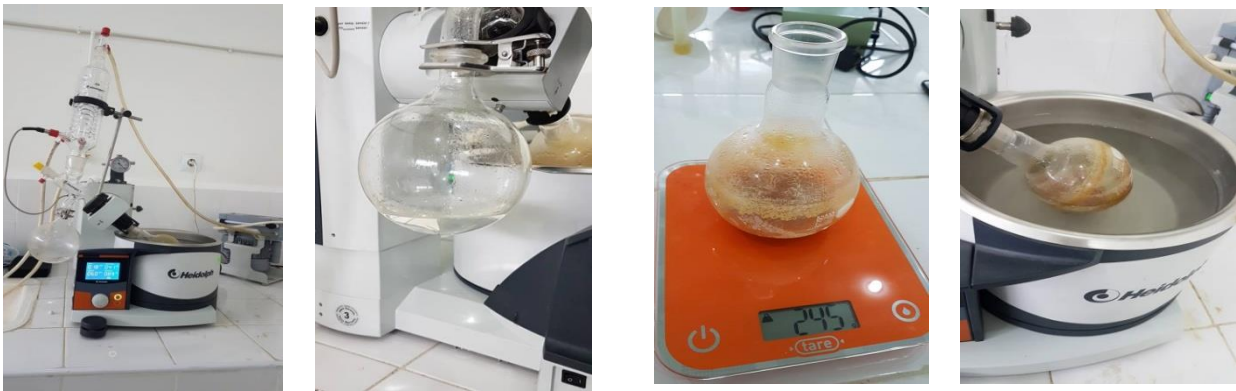


Figure 22 : Dispositifs du Rotavapeur (Originale).

9. Principe utilisé pour l'application du traitement :

Pour optimiser l'efficacité nous avons opté pour la diffusion du traitement via la circulation de l'air à l'intérieur du rucher. Ainsi on atteindrait tous les coins de la ruche pour une efficacité maximale, avec une faible dose du principe actif. Ce concept est utilisé par toutes les grandes marques mondiales qui produisent des traitements apicoles.

10. Formulation du traitement bioacaricide :

Le processus de fabrication du traitement qui contient le principe actif est assez complexe et long. Pour le confectionner on doit passer par plusieurs étapes ;

- **La graisse animale excipant** : nous avons cherché une graisse animale pure sans produits ajoutés, et qui n'interagirait pas avec les abeilles ni avec notre principe actif. Nous l'avons fait fondre sur un bain Marie et filtré avec un tissu en coton, pour obtenir un filtrat blanc sans grains ni impuretés.

- **Les abaisses langues support** : Les abaisses langues en bois ou en bambou sont un excellent support pour notre traitement naturel, biodégradable et surtout adapté à nos exigences dans cette expérimentation. Les abaisses langues sont pesées et sélectionnés. Leurs dimensions sont de 11 cm de longueur, 1.4 cm de largeur et 0.16 cm. C'est à leur surface que nous avons déposé le traitement sur une surface complète.
- **La propolis** : Après sa purification elle devient solide et difficilement manipulable, pour cela un volume de propolis pure est dilué dans un volume d'éthanol 70°, la solution final aura une bonne homogénéisation entre la propolis et l'alcool ce qui aura une action très significative dans l'évaporation de la propolis et sa diffusion.
- **Le traitement** : Une fois que nous avons tous les éléments nécessaire : l'huile essentielle, la propolis, la graisse animal et le support. La graisse est chauffé jusqu'à atteindre l'état de fusion dans un bain Marie, disposé ensuite sur un support de travail stérilisé. Nous avons disposé des quantités égales de graisse animale sur les abaisses langues, en veillant à la répartition homogène du produit.
- Aussi tôt, on ajoute nos gouttes d'huiles essentielles à l'aide de la micropipette selon les lots durant la phase de refroidissement de la graisse. Pour les lots contenant la propolis associée à l'huile essentielle, on prépare la solution de propolis dilué à l'avance conformément au protocole cité avant. Les doses sont mesurées et ajoutés selon les lots.
- Pour conserver l'action optimale du traitement, nous avons décidé de préparer la veille du dépôt sur les rucher les traitements, en les gardant la nuit dans le réfrigérateur dans des boites séparés et fermé hermétiquement 4°C.

Nous préparions chaque semaine 35 abaisses langues, dont 15 imprégnées d'huile essentielle et 15 avec l'huile essentielle mélanger propolis. Des lots de 5 répétitions sont attribués à chaque concentration, de la plus faible à la plus forte en passant par une moyenne.

Pour les ruches de témoins, nous avons mis les 05 abaisses langues restantes dont 03 avec de la graisse seulement autant que témoin positive de notre excipant. Et 02 sans traitement considérés comme témoins négatifs

11. Méthode d'étude de l'effet du traitement :

Nous avons à notre disposition 40 ruches, que nous avons partagées en 8 lots de 5 ruches. Pour que chaque lot reçoit un traitement différent. 03 lots étaient réservés au traitement à base d'huile essentielle uniquement à différentes concentrations, 03 suivants ont été traités avec un traitement combinant l'huile essentielle et la propolis, avec une concentration variable d'huile essentiel et constante pour la propolis.

Les deux derniers lots, un a été gardé pour le traitement chimique BAYVAROL comme témoin positive, et un lot utilisé comme témoin négatif.

Tableau IX: Répartition des lots et des traitements du dispositif expérimental.

N° lot	N° des ruches					Type de Traitement	Concentration
1	R67	R92	R86	R63	R91	Huile essentielle du thym	HC1
2	R32	R33	R10	R84	R80	Huile essentielle du thym	HC2
3	R52	R55	R57	R51	R39	Huile essentielle du thym	HC3
4	R85	R95	R36	R45	R97	Huile essentielle du thym + propolis	MC1
5	R100	R68	R62	R93	R83	Huile essentielle du thym + propolis	MC2
6	R70	R90	R79	R33	R94	Huile essentielle du thym + propolis	MC3
7	R77	R76	R75	R74	R81	Traitement chimique BAYVAROL	CH1
8	R14	R50	R28	R34	R29	Témoin non traité	

12. Méthode d'application du traitement sur les ruchers :

Les abaisses langues sont recouverte du traitement, une fois sécher, elles sont introduite au centre du rucher entres les cadres sans être en contact directe avec les alvéoles. Pour chaque rucher nous avons utilisé une abaisse langue pour une durée de 7 jours.

Nous avons également veillé à les introduire la matinée en temps ensoleiller afin d'éviter d'agiter les abeilles. 03 relevés de mortalité de varroas étaient réalisés par semaine.



Figure 23 : Zone de dépôt de l'abaisse langue dans les ruches (**Originale**).

13. Estimation du Varroa :

a. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie (**Robaux, 1986**):

La plupart des expériences sur Varroa ainsi que les suivis de mortalité naturelle pour évaluer l'infestation des colonies utilisent le comptage des varroas morts et tombés sur un linge placé sous une grille au fond de la ruche.

Ce choix repose sur un fait que la majorité des Varroas qui vont mourir tomberont sur les langes et il sera facile de les dénombrer (**Robaux, 1986**). Le comptage des Varroas a été réalisé 3 fois par semaine. L'estimation se fait par une simple division de mortalité journalière 29, cette valeur multipliée par 90 jours (la durée maximale de vie de la femelle varroa). Ce qui nous permis d'obtenir le nombre proche de varroa existant dans la colonie (**Robaux, 1986**).

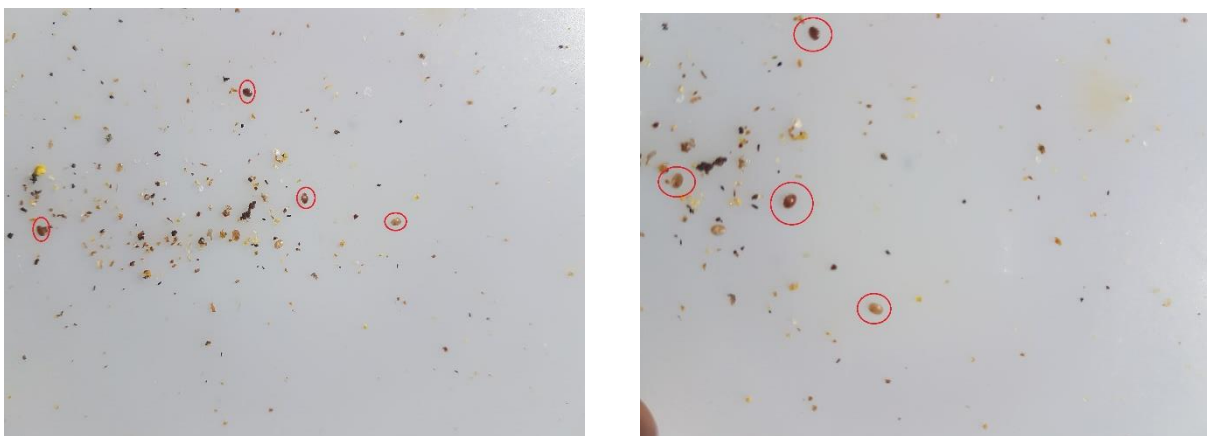


Figure 24 : Méthode de dénombrement des varroas morts sur les langes (**Originale**).

b. Estimation de la mortalité naturelle du Varroa pendant 15 jours :

Il est tout aussi important d'avoir une estimation du taux de mortalité naturelle du Varroa au sein des ruchers avant le traitement. La méthode que nous avons choisie était celle du dépôt des langes graissés, installées dans toutes les ruches avant le traitement de 15 jours elles permettent de recueillir les varroas tombés naturellement.

Les langes sont recouvertes d'une mince couche de graisse qui immobilise les varroas vivants, Nous effectuons le dénombrement une fois par semaine à l'aide d'une loupe pour mieux distinguer les varroas des débris de ruche.

c. Estimation de la mortalité journalière du varroa (B) :

C'est le nombre de varroas mort par mois divisé par 30, on obtient ainsi le nombre approximatif de mortalité journalière du varroa.

d. Estimation du nombre de varroa dans une colonie (C) :

Elle correspond au nombre de varroa estimé dans une colonie en faisant la multiplication :

$$C = B * 90$$

14. Méthode d'estimation du nombre d'abeilles dans une colonie (P) :

En se référant aux dimensions des cadres de corps de type Langstroth qui sont d'une surface de 82000 mm², on estime donc qu'un cadre peut contenir jusqu'à 200 gramme d'abeilles.

Le poids d'une abeille est de 0.1 Gramme, ce qui fait qu'un cadre peut contenir jusqu'à 2000 abeilles, multiplier par le nombre de cadres dans le rucher, nous obtenons le nombre totale d'abeille dans la colonie (**Berkani, 1985**).

Dans notre cas, c'est les responsables de l'ITELV qui nous ont donnés les estimations du nombre d'abeilles dans les 40 ruches du dispositif expérimental.

15. Calcule du taux d'infestation d'une colonie avant le traitement :

L'estimation du nombre de varroa au sein d'une colonie est une étape indispensable avant de commencer le traitement, on doit donc procéder à un diagnostic biologique qui nous permettra d'évaluer le degré d'infestation dans l'ensemble des ruches.

Une fois les opérations d'estimation du nombre de varroa et du nombre d'abeilles sont effectués nous pourrons évaluer le degré d'infestation initial de chaque colonie en faisant le rapport : $T_i = C / P$

- C : correspond au nombre de varroa estimé dans une colonie.

- P : correspond au nombre d'abeilles estimé dans une colonie.
-

16. Expression des résultats :

L'efficacité des produits est évaluée par la mortalité des Varroas, cependant le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par notre biopesticide n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce produit.

Il ne faut donc pas négliger la population morte d'une manière naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par le traitement. Nous avons corrigé les pourcentages de mortalité par la formule d'Abbott :

$$MC\% = (M-MT*100) / (100-Mt).$$

Mc : La mortalité corrigée.

M : Pourcentage de mort dans la population traitée.

Mt : pourcentage de mort dans la population témoin.

17. Analyse statistique des données :

Les analyses statistiques ont été réalisés par l'analyse de la variance du type GLM chaque facteur indépendamment et ANOVA pour l'interaction entre eux, les données ont été déroulées par le logiciel SYSTAT ver 7 et par le logiciel Past Ver 1.37.

Les résultats sont rapportés comme valeurs de trois répétitions sur la base d'un C.V. <15%. L'analyse de la variance (type GLM et type ANOVA) a été utilisée pour établir l'effet des différents traitements sur l'activité acaricide de l'huile essentielle du Thym *Thymus vulgaris* L. les différences ont été considérés comme significatives à $p < 0,05$.



Partie III

Résultats et discussion

1. Résultats :

A partir de la **figure 25** on observe clairement les différentes fluctuations météorologiques durant la période d'expérimentation. Ainsi nous avons noté des pics de température élevées allant jusqu'à 30 C° - 26 C° - 25 C° durant les jours du 06/03 – 04/03 – 16/03. D'autres parts nous avons également constaté des températures très basses par rapport à la moyenne enregistrée allant de 15 C° - 12 C° - 11 C° durant les jours du 22/03 – 20/03 – 19/03.

Ces mesures ne sont pas à négligé, elles ont une influence directe sur le comportement des abeilles tant que sur l'efficacité de notre traitement biologique sur le Varroa.

1.1.Rendement en huile essentielle :

Tableau X : Rendement de l'huile essentielle et teneur en eau du Thym récolté.

La plante	Thym	
Teneur en eau en pourcentage	90 - 95	
Le rendement en pourcentage pour 100 grammes de plante.	Matière fraîche	0.002
	Matière séché	0.02

En second lieu, nous observons un faible gain même avec une matière sèche, soit pour 1 ml d'huile pure il faudrait près de 500 g de feuilles fraîches ou 50 g de feuilles séchés.

1.2.Réfractométrie :

Tableau XI : Résultats d'indice de réfraction observée sur le refractomètre à 20 degrés Celsius.

Température de mesure	Indice de réfraction obtenu à 18 °C	Indice de réfraction référence à 20 °C
20°C	1455	1460-1475

A partir de ces résultats obtenus, nous pouvons dire que notre huile essentielle est de très bonne qualité et se caractérise par une grande pureté (Delgado et al., 2016).

1.3. Test de toxicité sur les abeilles :

Tableau XII : Résultats du test de toxicité sur les abeilles.

Dose	Nombre abeilles	Abeilles conscientes	Abeilles assommées
D1	05	5	0
D2	05	2	3
D3	05	0	5

D'après les observations retenues, nous constatons que les doses (**D2, D3**) étaient trop fortes au point d'assommés les abeilles au bout de 20 min, mais elles ne sont pas mortes.

Ainsi pour la concentration utilisée au niveau des ruches de l'expérimentation, nous avons pris en compte la (**D1**) qui a été appliqué pour un volume de 1500 cm³ et adapté la concentration au volume d'une ruche Langstroth.

Les abeilles assommées, avaient perdus leurs facultés motrices et semblaient s'en rouler autour d'elles même, elles reprenaient conscience progressivement après 15 min à l'air libre.

Tableau XIII : Volume de la boîte à essais ainsi que de la ruche du type Langstroth

Volume boîte d'essais cm ³	Volume ruche de type Langstroth en cm ³
1500 cm ³	53730 cm ³

1.4. Test de toxicité sur le Varroa :

Concernant les résultats du test d'efficacité de l'huile essentielle contre le Varroa que nous avons piégé dans une boîte de Pétri. Nous avons observé un taux de mortalité intégrale de toutes les Varroas après 12 heures.

1.5. Taux d'infestation du varroa dans les lots avant traitement :

Tableau XIV : Taux d'infestation des ruches avant traitement.

Lots	varroa mort mois (A)	Varroa mort jour (B)	Population estimé de Varroa (C)	Population d'abeilles estimée (P)	Taux infestation	Taux infestation moyen par traitement
1	264	9,1	816	7500	0,1088	0,17213333
2	531	18,3	1650	7500	0,22	
3	452	15,6	1407	7500	0,1876	
4	235	8,1	732	7500	0,0976	0,13146667
5	389	13,4	1209	7500	0,1612	
6	328	11,3	1017	7500	0,1356	0,1744
7	421	14,5	1308	7500	0,1744	0,1132
8	273	9,4	849	7500	0,1132	0,1132

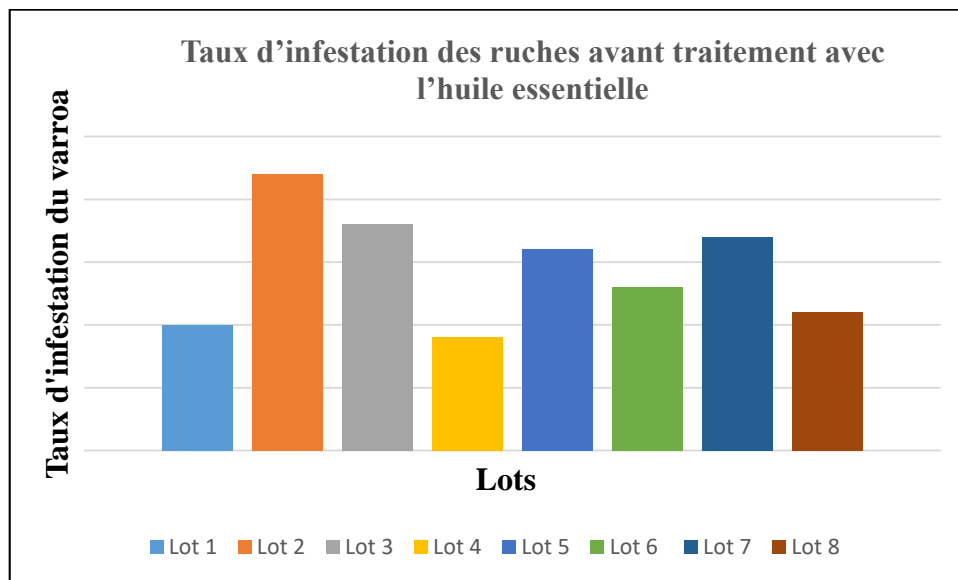


Figure 26 : Taux d'infestation des ruches avant traitement avec l'huile essentielle

D'après les résultats obtenus dans le **Tableau XIV**, nous constatons que l'ensemble des colonies d'abeilles sont parasitées par le Varroa. Le degré d'infestation varie de **0.09%** observée dans le **lot 4** (traitement mélange huile essentielle avec propolis concentration faible) à **0.22%** observée dans le **lot 2** (Traitement huile essentielle à concentration moyenne).

Pour le reste des ruches, le taux est très hétérogène, nous les avons donc regroupées dans un intervalle.

- Taux infestation (**inférieur à 0.12%**) : Ruches du **lot 1 – 4 – 8**.
- Taux d'infestation (**entre 0.12 % et 0.2%**) : Ruches du **lot 3 – 5 – 6 – 7**.
- Taux d'infestation (**Supérieur à 0.2%**) : Ruche 2.

A partir des résultats mentionnés dans **figure 22** nous pouvons déclarer que le **lot 2** est celui qui se caractérise par un taux d'infestation le plus élevé suivi des **lots 3 – 5 – 6 – 2**.

1.6. Evaluation après traitement du nombre de varroa morts dans les lots en fonction de la période de traitement :

Dans cette partie-là, nous allons présenter l'ensemble des variations du taux de mortalité du Varroa au niveau des ruches selon le type du traitement en fonction du temps (semaines).

A. Evolution temporelle du nombre de varroa mort pour le traitement biologique huile essentielle Thym :

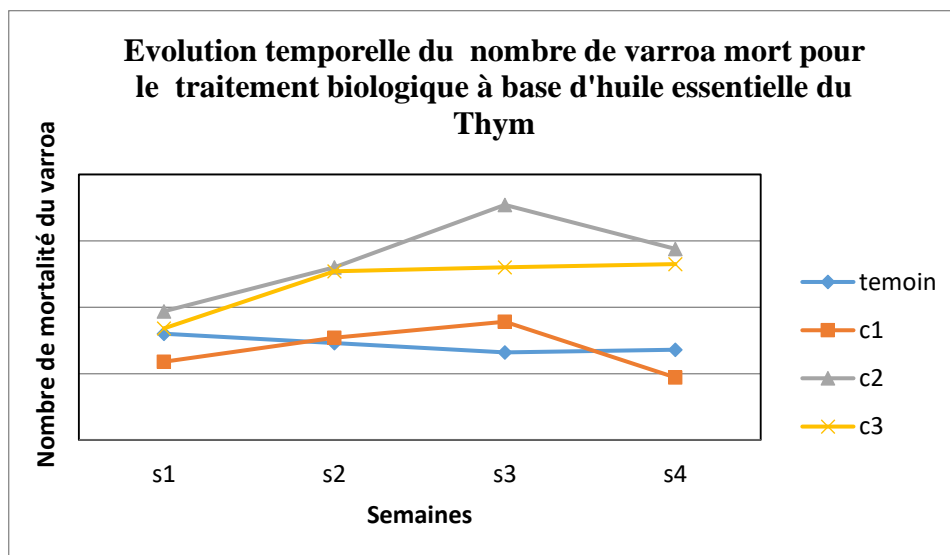


Figure 27 : Evolution temporelle du nombre de Varroa mort pour le traitement biologique à base d'huile essentielle du Thym.

Selon la **figure 27**, qui regroupe le nombre de Varroa morts en fonction des semaines du traitement pour les **lots 1 – 2 – 3** et le **lot 8** témoin, traité uniquement avec l'huile essentielle du Thym, nous avons noté une croissance pour la mortalité chez les concentrations d'huile essentielle **HC1- HC2- HC3** correspondant aux lots **1- 2 - 3** respectivement, durant la première semaine du traitement avec une régression de la mortalité observée pour le témoin.

Pendant la seconde semaine, les concentrations **HC1** et **HC3** poursuivent une progression mais lente comparé à celle de la concentration **HC2** qui atteint le pic du taux de mortalité, en même temps, le taux de mortalité du témoin continu à diminuer.

A partir de la 3eme semaine, le taux de mortalité enregistré pour **HC2** et **HC3** chute avec toujours **HC2** qui domine tandis que **HC3** donne un taux de mortalité inférieur au témoin. En même temps **HC1** ainsi que le témoin progressent avec un taux légèrement supérieur à la semaine précédente.

B. Evolution temporelle du nombre de varroa mort pour traitement biologique mélange huile essentielle Thym avec la propolis :

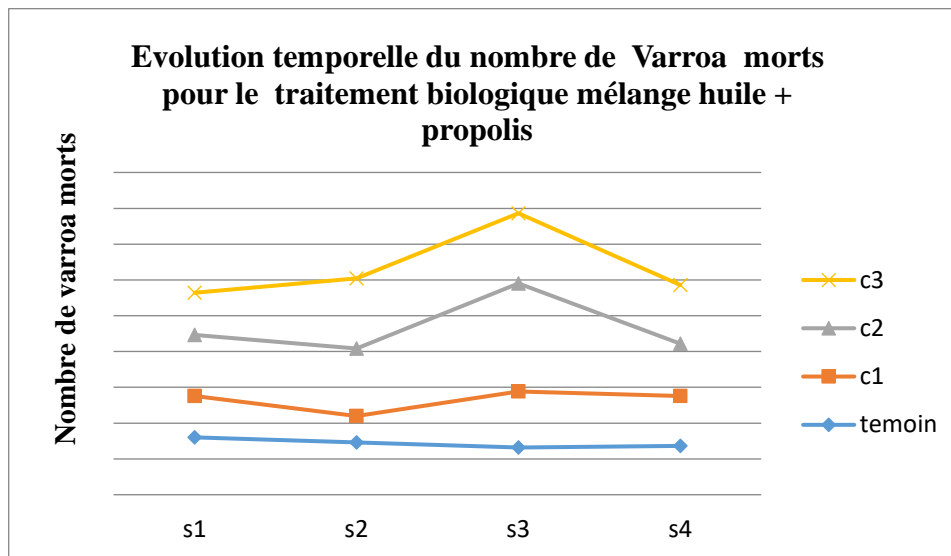


Figure 28 : Evolution temporelle du nombre de Varroa mort pour le traitement biologique mélange huile essentielle du Thym avec la propolis.

La **figure 28** représente le taux de mortalité du Varroa en fonction des semaines du traitement pour les lots **4 - 5 - 6** et le lot **8** témoin, traité avec le mélange huile essentielle Thym avec la propolis. Nous avons observé une régression du taux de mortalité pour les concentrations **MC2**, **MC1** et le témoin pour la première semaine, le taux noté pour la 3eme concentration quant a lui a augmenté légèrement et marque le taux le plus élevé.

La seconde semaine, **MC1** et **MC2** augmentent grandement avec **MC1** qui montre une progression légère du taux de mortalité.

Arrivé à la 3eme semaine, toutes les valeurs du taux de mortalité pour les 3 concentrations diminuent, le témoin quant à lui suit une progression constante et **MC3** affiche le taux le plus élevé.

C. Evolution temporelle du nombre de varroa morts avec traitement chimique Bayvarol :

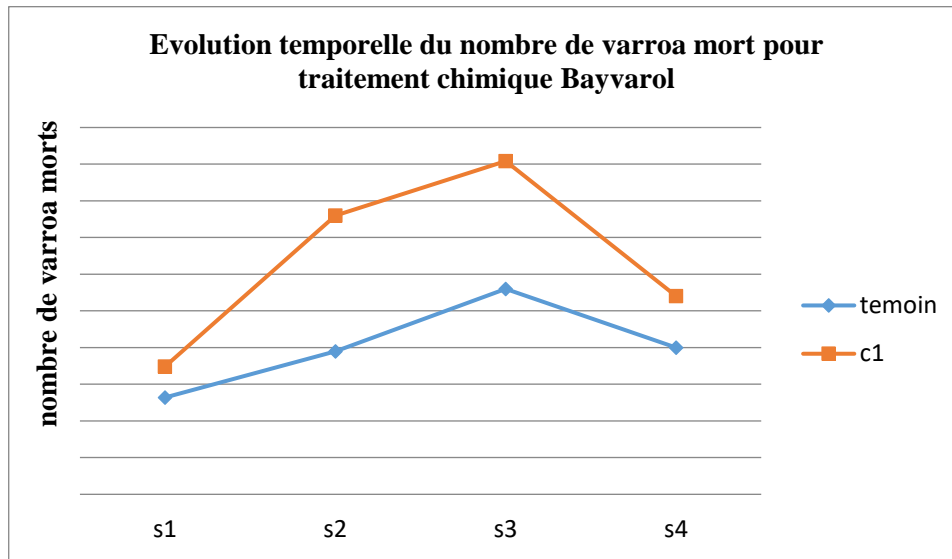


Figure 29 : Evolution temporelle du nombre de Varroa mort pour traitement chimique Bayvarol

D'après la **figure 29** qui représente le taux de mortalité du Varroa en fonction des semaines du traitement pour le **lot 7** et le **lot 8** témoin. Traité avec le traitement chimique Bayvarol. Nous avons constaté durant la première semaine, une progression très prononcé du le taux de mortalité concernant les deux lots. La courbe continue sa monté vers jusqu'à sa 3eme semaine avec un taux de mortalité dominé par le traitement chimique.

A partir de la 3eme semaine, les taux redescendent avec la concentration du traitement chimique qui marque la plus grande valeur de mortalité.

1.7.Taux d'infestation du varroa dans les lots après traitement :

Tableau XV : Taux d'infestation des ruches après traitement.

Lots	varroa mort mois (A)	Varroa mort jour (B)	Population estimé de Varroa (C)	Population d'abeilles estimée (P)	Taux infestation	Taux infestation moyen par lot
1	32	1,1	99	7500	0,0132	0,0756
2	299	10,3	927	7500	0,1236	
3	218	7,5	675	7500	0,09	
4	20	0,7	63	7500	0,0084	0,0396
5	171	5,9	531	7500	0,0708	
6	96	3,3	297	7500	0,0396	0,0396
7	189	6,5	585	7500	0,078	0,078
8	41	1,4	126	7500	0,0168	0,0168

Les résultats obtenus dans le **Tableau XV** montrent en premier lieu qu'une infestation existe toujours présente même si elle avoisine les 0.008%, la présence du varroa est toujours dans l'ensemble des lots à des degrés hétérogènes.

Ensuite nous avons noté une nette diminution du taux d'infestation par lot, en effet le taux d'infestation se situe dans un intervalle de **0.008 %** et **0.12%** avec Le **lot 2** qui marque le taux le plus élevé et le **lot 4** le taux le plus bas.

1.8.Efficacité des traitements dans le contrôle du Varroa par rapport au taux d'infestation initial:

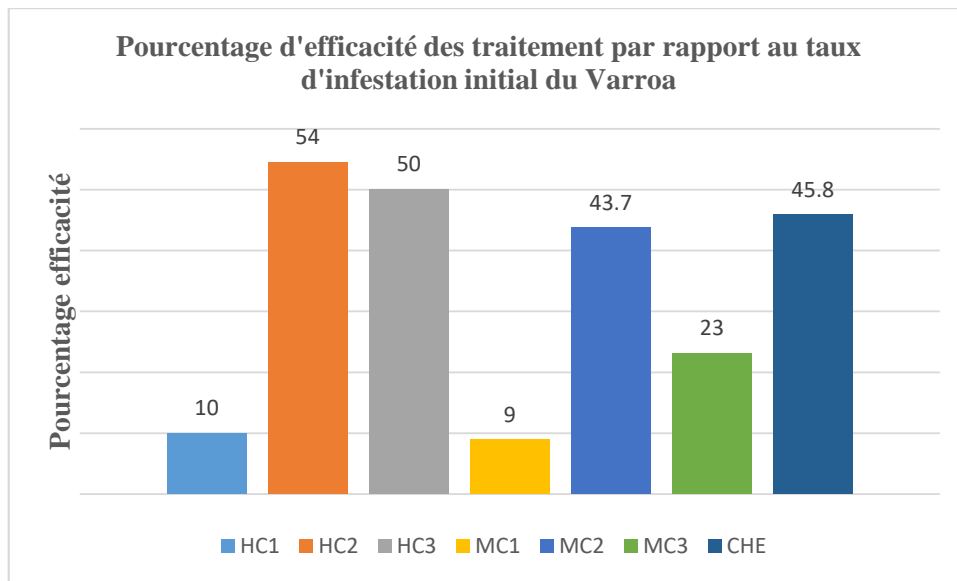


Figure 30 : Efficacité des traitements dans le contrôle du Varroa par pourcentage de mortalité par rapport au taux d'infestation initial.

Dans **figure 30** les résultats observés montrent une forte efficacité de l'activité acaricide contre le Varroa concernant le traitement à base d'huile essentielle **HC2, Lot2**. Ensuite viennent les 3 autres concentrations **HC3 – MC2 - CHE** qui offrent des pourcentages d'équivalant mais inférieur à **HC2**.

MC3-HC1-MC1 ont révélées des taux d'efficacité moindre par rapport à l'ensemble des traitements appliqués.

1.9.Résultat de l'analyse de la variance par le test GLM des traitements sur nombre de mortalité du varroa :

Selon l'analyse statistique effectué par le test GLM, et les résultats mentionné dans le **tableau XVI**, le facteur période de traitement exerce une différence très significative (**0,000**) sur la variation de la mortalité du varroa parasite de l'abeille, le facteur dose de traitement et l'état de la ruche ont un effet hautement significatif (**p=0,000**).

Par contre le facteur type de traitement n'a provoqué aucune différence significative sur le nombre de mort de varroa ce qui montre que tous les traitements ont un même effet que celui du témoin qui n'a pas été traité.

Nous pouvons déduire que les traitements chimique et biologiques ne sont pas une alternative sauf si nous allons augmenter les doses.

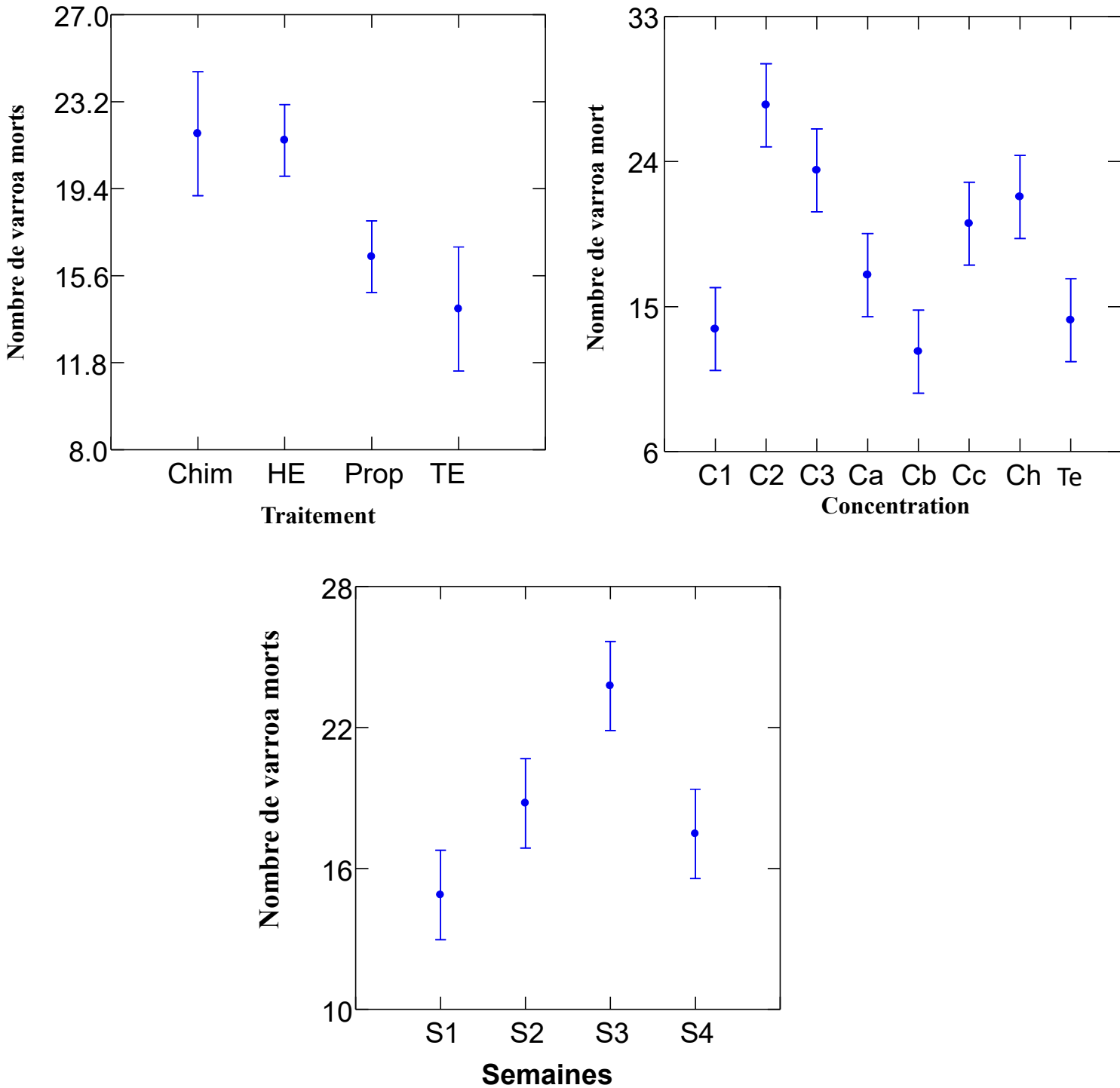


Figure 31 : Analyse de la variance model GLM du nombre de varroa mort après traitement en fonction des semaines – le traitement – la concentration.

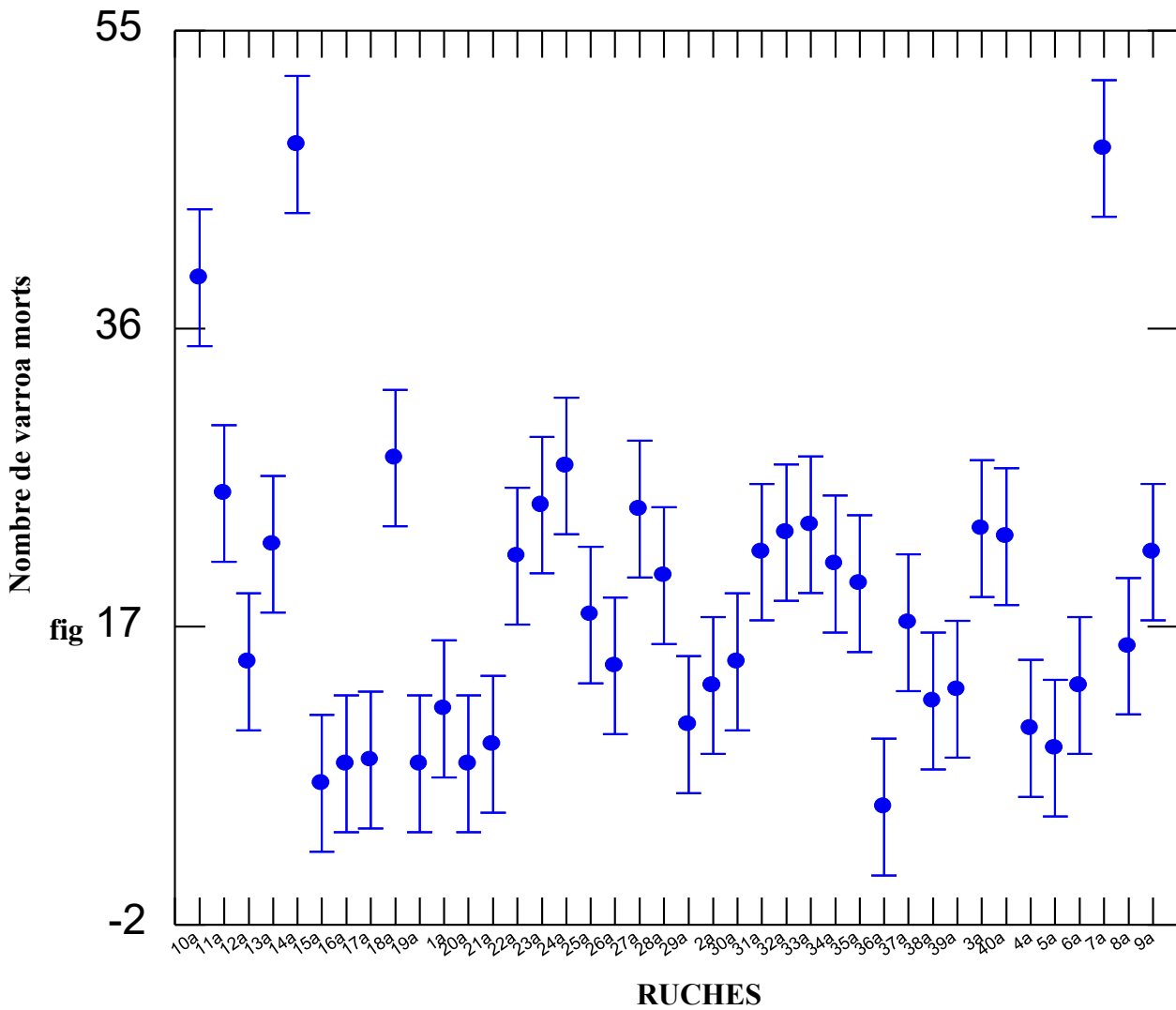


Figure 32 : Analyse de la variance model GLM du nombre de Varroa morts en fonction des ruche après traitement pour l'ensemble des facteurs.

Tableau XVI : Analyse de la variance model GLM sur l'influence de nos traitements.

Analyse de la Variance : test GLM					
Source	Somme des carrés	Ddl	Carrés moyens	F-ratio	P
Semaine	1675.600	3	558.533	8.769	0.000
Traitement	39.746	2	19.873	0.312	0.133
Concentration	1647.087	4	411.722	6.465	0.000
Ruches	11160.100	33	338.185	5.310	0.000

D'après les résultats obtenu par l'analyse de variance et représenté dans la **figure 32**, on observe que les traitements chimiques et biologiques à base d'huile essentielle ont données des résultats assez proches.

Ensuite que c'est précisément la **HC2** qui a marqué le plus haut taux de mortalité du *Varroa* suivie de la **HC3** puis le traitement chimique.

En dernier, facteur à ne pas négliger, la durée du traitement, nous constatons que plus le temps passe plus l'efficacité augmente pour diminuer ensuite vers la dernier semaine.

Chapitre 02 : Discussion.

1. Discussion:

L'environnement et l'agriculture sont dépendant de nombreuses et diverses espèces pollinisatrices, les abeilles durant leurs récoltes, contribuent à la survie et à l'évolution de plus de 80% des espèces végétales. Aujourd'hui, la population de ces pollinisateurs est menacé, elle connaît déjà un déclin qui semble s'accélérer à cause de l'ectoparasite *Varroa destructor*.

La Varroase constitue l'une des plus graves maladies de l'abeille domestique *Apis mellifera* en Algérie. La multiplication du parasite se produit dans la ruche, ensuite il se nourrit de l'hémolymphe des abeilles, ce qui inévitablement au déclin de la colonie, entravant ainsi le développement de l'apiculture.

Lorsque les colonies sont infectées, différents acaricides sont appliqués pour riposter contre la population du parasite. Actuellement, le contrôle du parasite est basé essentiellement sur les acaricides chimiques de synthèse, à force d'être répétés, des problèmes sont apparus notamment la résistance et les résidus dans les produits de la ruche (**Fries et al., 1998 ; Brodschneider et Robert, 2010**). Ces problèmes, ont poussés les chercheurs à avoir recours à d'autres alternatives pour contrôler le Varroa sans avoir autant de répercussions.

Les plantes médicinales et aromatiques demeurent une source inépuisable de substances biologiquement actives. L'Algérie est connue pour sa richesse en plantes médicinales, au regard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Les huiles essentielles obtenues à partir d'extraction de plantes aromatiques constituent une piste nouvelle dans la lutte biologique contre le parasite ravageur.

L'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité acaricide du Thym (*Thymus vulgaris*) contre le *Varroa jacobsoni* dans l'espoir de mettre en place une lutte plus saine et respectueuse de l'environnement.

Le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation avec le system Clevenger était de **0.02%** soit **50 g** de plante séché pour **1 ml** d'huile essentielle de Thym, ces résultats sont inférieur à ceux obtenu par **Lalami et al., (2013)** qui avait obtenu un rendement de **0.5%** à partir de la matière sèche de *Thymus vulgaris*.

Cette différence des rendements des huiles essentielles peut être attribuée à plusieurs facteurs, les conditions pédoclimatiques, la période de récoltes, la nature de l'espace qui varie d'une région à une autre et la méthode d'extraction (**Bousbia, 2004**).

Le résultat obtenu par réfractométrie, nous a indiqué que notre huile essentielle se caractérise par une grande pureté, conformément aux références internationales, nous avons mentionné un indice de réfraction de **1460 à 20 °C** qui est inférieur à celui obtenu par **Delgado et al., (2016) 1550 à 20 °C**, ceci signifie que notre huile essentielle est plus pure.

Il faut savoir que plus une huile est pure, plus son efficacité est optimale moins on n'as besoin d'augmenter la concentration.

Durant notre travail expérimental, nous avons constaté la présence d'une hétérogénéité dans le taux d'infestation du varroa au niveau des ruches, mais également l'obtention d'un faible pourcentage d'infestation qui n'excède pas les **0.23%** (**Fig. 26**).

Ceci est dû au fait que, les ruches de l'institut sont traitées rigoureusement par des traitements chimiques selon un calendrier bien précis. Notre intervention s'est déroulée à peine quelques mois après la période de traitement, en conséquence, la population du parasite était au plus bas.

L'hétérogénéité des résultats d'infestation peu se justifier par plusieurs facteurs, nous citons le nombre de cadres mâles dans les ruches du **lot 02** qui sont plus dominant que dans d'autres lots, voir même absent dans le cas du **lot 04**. Le parasite porte une grande affinité pour les cellules mâles dû au cycle rapide de développement du bourdon, il est donc clair que le nombre de cadres mâles augmente considérablement le nombre de varroa dans une ruche, les travaux réalisés par **Alexis Ballis (2010)** viennent soutenir cette hypothèse, plus loin encore, il propose un moyen de lutte mécanique contre le Varroa en utilisant des couvains mâles.

Un autre facteur à ne pas négliger, c'est l'aptitude des abeilles à se nettoyer, en effet durant notre travail nous avons remarqué une diversité dans le comportement hygiénique des abeilles, en observant les débris laissés dans les langes. Ce comportement constitue une résistance naturelle de l'abeille contre le Varroa comme l'affirment **Chapleau et Jean-pierre (2002)**. Ainsi un toilettage rigoureux par les abeilles réduirait considérablement le taux d'infestation du Varroa dans la ruche et protégerait la colonie d'une multitude de bioagresseurs. (**Boecking et al., 1999 ; Nazzi et al., 2004 ; Aumier et al., 2001**).

En observant de près les résultats de l'évolution temporelle du taux de mortalité du varroa obtenus par traitement avec l'huile essentiellement uniquement, nous constatons la présence d'une courbe progressive chez les 03 concentrations à partir de la première semaine du traitement (**fig. 27**). La **HC1** passe d'une moyenne de mortalité **11.8** à **14.6** la première semaine puis à **17.8** la suivante, en pourcentage elle se traduit par une augmentation d'efficacité de **23%** à partir de la seconde semaine à une augmentation de **50%** durant la 3ème semaine.

Mais la concentration la plus intéressante est la **HC2**, elle gagne **54%** d'efficacité dès la première semaine puis **110%** à partir de la seconde semaine. Comparé à la **HC3** qui a montré des résultats supérieurs à la **HC1** mais inférieurs à la **HC2**. La **HC2** est de loin la plus optimale (**fig. 27**).

D'après les résultats observés dans les figures (**27. 28. 31**) Il n'y a aucun doute sur l'action des traitements à base d'huile essentielle. Ces derniers gagnent en efficacité en fonction du temps. Cette idée est confirmée ensuite durant la seconde semaine après renouvellement du traitement lorsque les courbes continuent d'augmenter et atteignent leurs pics d'efficacité (**fig. 28**). Les travaux publiés par **Imadrof et al., (1999)** sur l'usage des huiles essentielles dans le contrôle du Varroa ont donné des résultats similaires aux nôtres, ils donc viennent renforcer ce constat

Ce phénomène s'explique par le fait que, dans notre traitement, la méthode choisie était celle de la diffusion par volatilisation de l'huile essentielle du Thym. L'effet du bioacaricide est donc tardif, il nécessite quelques jours pour se propager dans toute la ruche, tout en étant conditionné par les facteurs climatiques.

Pour les lots traités avec le mélange propolis et huiles essentielles, les résultats étaient peu satisfaisants comparés à ceux obtenus grâce à l'huile essentielle uniquement (**fig. 28**). Nous avons noté un taux de mortalité de **15.8** pour la **MC1** comparé à la **HC1** qui affiche **17.8, 30.2** pour la **MC2** contre **35.4 HC2** et en dernier **20** pour la **MC3** contre **26 HC3**.

Nous concluons donc que malgré qu'il s'agisse de la même concentration d'huile essentielle, l'apport de la propolis influence l'efficacité de cette dernière contre le Varroa.

Egalement, nous soulignons la longue période d'attente entre l'application du bioacaricide contenant la propolis et le début de son effet toxique sur le parasite, qui est équivalente à une semaine. En plus, seule la concentration **MC3** s'est révélée efficace, cette dernière est plus coûteuse et nécessite plus de ressource en matière première comparé aux résultats obtenus avec la **HC2**, une faible concentration pour un résultat optimal.

Enfin, on pourrait supposer que le faible taux de mortalité obtenu avec la propolis est dû surtout à la faible fraction en composés volatils qui sont présents majoritairement dans l'huile essentielle pure, les études menées par **Chang et al., (2002)** et **Bankova et al., (2014)** sur la composition en substance volatile de la propolis confirment que bien qu'il existe des fractions volatiles similaires à celles présentes dans l'huile essentielles du Thym, ces dernières restent très insignifiantes comparées à celles présentes dans l'huile essentielle elle-même.

Malgré le nombre peu d'études achevées actuellement dans l'identification de l'action des huiles essentielles sur le Varroa, elles tendent toutes à démontrer que les composés volatils présents dans les huiles essentielles notamment le Thymol portent une action sur le système nerveux de l'acarien, les travaux de **Ghasemi et al., (2011)** et de **Ruffinengo et al., (2007)** viennent déclarer que le thymol agit comme un neurotoxique sur le parasite mais pas l'abeille.

Les données recensées après la période de traitement montrent une grande efficacité pour les concentrations à base d'huiles essentielles (**fig. 30**). Des pourcentages d'efficacité supérieurs comparés à ceux du traitement chimique Bayvarol. On note **54.8%** d'efficacité pour **HC2**, et **50%** pour **HC3** contre **45.8%** pour le traitement chimique.

Les résultats obtenus par **HC2** équivalant à **54.8%** se sont révélés similaires à ceux obtenus par **Imdrof et al., (1999)** qui décrit avoir obtenu un taux de mortalité du Varroa égale à **55%** après utilisation de l'huile essentielle du Thym. Ces résultats sont très encourageants surtout qu'ils dépassent ceux du traitement chimique durant cette expérimentation.

L'efficacité du traitement biologique à base d'huile essentielle peut être due à certains paramètres, nous commençons avec le fait que ces abeilles sont traitées exclusivement avec des traitements chimiques, avec les répétitions et l'utilisation abusive par les apiculteurs le parasite développe des résistances ce qui réduit l'efficacité du produit comme le décrivent **Mallick (2013)** et **Alloui (2017)** dans leurs travaux.

Aussi l'influence de la température sur les traitements eux même et sur les abeilles. La température est un facteur très important dans notre expérimentation, elle conditionne certains comportements chez les abeilles selon lesquelles, lorsqu'il fait chaud les abeilles ont plus tendance à sortir faire la récolte **Murray et al., (2009) et Hauser et al., (2009)** parlent du dans leurs travaux du comportement des abeilles et l'effet de l'écologie sur l'activité de la colonie.

Vu de cet ongle et à une fréquence répété on déduit que le période d'exposition du varroa parasite de l'abeille est réduite pour chaque voyage à l'extérieur de la ruche fait par l'abeille, ce qui réduit considérablement la durée d'exposition de l'abeille au traitement, les travaux de **Berkani et al., (2013)** parlent de ce phénomène pour les abeilles domestiques *Apis mellifera* et la relation avec la mortalité du Varroa.

Egalement, la température agit directement sur vitesse de volatilisation de notre huile essentielle, et bien que la température au sein d'une ruche avoisine les 30 °C, lorsqu'elle augmente à l'extérieur, à l'intérieur elle subit également des modifications. **Imadorf et al., (1999)** avait déclaré dans ses travaux sur le Thymol que la température influence la volatilisation de l'huile, par conséquent son effet toxique. **Schulz et al., (1993) et Calderone et al., (1995)** ont fait le même constat pour d'autres huiles essentielles et fixent un intervalle d'action optimal à partir de 20 °C à 25 °C pour les huiles essentielles.

Pendant notre expérimentation, la température n'était pas très stable, nous sommes en effet passé par plusieurs périodes de fluctuation climatique, le 06/03 nous avons noté une température de 30°C ensuite une diminution de 17 °C le 08/03, le 20/03 nous avons relevé une température de 11 °C allant jusqu'à 12 °C durant les 03 jours consécutives (**fig. 25**).

En conclusion, en cas de canicules l'huile essentielle pourrait devenir trop volatile, induisant par la suite à un effet toxique au sein de la ruche. Tout comme elle peut être inefficace en cas de baisse de température.

Généralement, tout produit introduit dans la ruche induit a une perturbation dans la colonie, encore plus dans notre cas à travers l'utilisation de odorant comme le décrit **Ruffinengo et al., (2007)** dans ses travaux. Cependant nous n'avons constaté aucun cas de mortalité chez les abeilles contrairement au produit chimique. Plus intéressant encore, c'est que dans certaines ruches les abeilles ont dégradé notre produit mais nous n'avons trouvé aucune abeille morte même après un mois de traitement.

Nous déduisons donc que non seulement les doses utilisées n'étaient pas létale pour les abeilles par diffusion ni même par contact directe ou ingestion par les abeilles. En outre, nous avons non seulement obtenu une meilleure efficacité que le produit chimique mais également assuré la non toxicité sur les abeilles.

En dernier on porte une remarque sur le fait que notre traitement n'agit pas sur les alvéoles operculée, d'après les travaux faits par **Moussaoui et al., (2014)** sur l'action des huiles essentielles sur le varroa, en cas de présence de parasites dans les œufs il faudra attendre

l'éclosion pour que le produit diffuse. Donc si en cas d'infestation des œufs il ne portera aucune action, d'où la nécessité de prolonger la durée du traitement sachant que après 1 mois nous n'avons relevée aucun effet secondaire ou anomalie chez toutes les colonies.



Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour but de trouver une alternative aux produits de synthèses, qui étaient les seuls moyens de lutte contre le parasite à ce jour.

La toxicité pour les abeilles, l'environnement, résidus chimiques et l'appariations de résistances chez le parasite étaient les plus grands inconvenants des traitements chimiques. Mais sans autre moyens pour limiter les ravages du Varroa, les apiculteurs n'avaient pas d'autres solutions.

Aujourd'hui après avoir constaté les résultats obtenus par notre bio acaricide, nous pouvons nous réjouir du pas en avant que nous avons fait dans la recherche de solutions alternatives et durables pour remédier à ce fléau.

Afin d'aider les apiculteurs à lutter contre ce parasite, nous avons évaluée l'efficacité de plusieurs traitements, le premier à base d'huile essentielle du Thym uniquement, dans le second, nous avons associé l'huile essentielle du Thym à la Propolis et pour le dernier traitement, nous avons utilisé un produit conventuelle Bayvarol.

Nos essais ont révélés une forte efficacité du traitement à base d'huile essentielle extraite à partir de la plante du Thym (*Thymus vulgaris*) via l'hydrodistillation. Nous avons noté une efficacité de 54.8% pour la HC2 contre 45% chez le traitement de synthèse Bayvarol,

La HC2, seconde concentration du bioacaricide à base d'huile essentielle uniquement avait donné les meilleurs résultats, tout en restant moins couteuse que les autres doses. En effet avec sa dose de 50µl (0.05ml) elle avait assuré un effet durant toute une semaine, sans dénombrer aucun cas de mortalité ni de perturbation chez les abeilles, également, nous n'avons pas constaté de changement de la qualité organoleptique du miel même après 04 mois de traitement.

La propolis n'avait pas donné des résultats intéressent, même associée à l'huile essentielle. Son exploitation ne serait pas judicieuse étant donnés les résultats, d'autant plus qu'elle est une matière très cher.

Bien évidemment, les travaux ne doivent pas s'arrête ici, des études poussées doivent être mené pour arriver à une formulation idéale, capable de résister à tous les facteurs, tout en offrant les mêmes avantages que les produits chimiques.

L'ensemble des résultats obtenu ouvrent la voie à de grandes perspectives futures.

Due à la faible dose nécessaire, une production nationale pourrait être lancée afin de satisfaire les besoin de chaque apiculture, et par la même occasion pouvoir les biopesticide en Algérie au près des apiculteurs.

L'utilisation de ce bioacaricide à base d'huile essentielle pourrait entrer dans un programme de création de produit de la ruche thérapeutique.



Références bibliographiques

Al-bayati f. a. 2008. synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *journal of ethnopharmacology.*, 166 (3) : 403-406.

Alexis ballis - Lutte mécanique contre le Varroa : Piégeage dans le couvain mâle - Conseiller technique apicole - Chambre d'Agriculture d'Alsace – 25/11/2010.

Alexis St-gelai – Vulgarisation : extraction d'huiles essentielles en laboratoire 4 aout 2014.

Alloui nadir, Contre, Essai Therapeutique De La Flumethrine, And Chez L'abeille Le Varroa. "Mots Clés: Varroase, Appis millifica, traitement, flumethrine, Algérie." (2017).

Amdam, Gro V., et al. "Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering?." *Journal of economic entomology* 97.3 (2004): 741-747.

Anatomy of th honey bee. Snodgrass RE 1984. Cornell University press, Ithaca, Naw York.

Anderson d.l. (2000). Variation in the parasitic bee mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 281-282.

Anderson, D. L., and J. W. H. Trueman. "*Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species." *Experimental & applied acarology* 24.3 (2000): 165-189.

André lequet. Le Varroa des abeilles, 2 janvier 2012 <http://insectes-net.fr/varroa/var2.html>.

Aumeier, pia, and Peter Rosenkranz. "Scent or movement of *Varroa destructor* mites does not elicit hygienic behaviour by Africanized and Carniolan honey bees." *Apidologie* 32.3 (2001): 253-263.

Ball, B. V. "Acute paralysis virus isolates from honeybee colonies infested with *Varroa jacobsoni*." *Journal of Apicultural Research* 24.2 (1985): 115-119.

Bankova, vassya, Milena Popova, and Boryana Trusheva. "Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review." *Chemistry Central Journal* 8.1 (2014): 28.

Bazylko A. Et Strzelecka H. 2007. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitotherapia.*, 78 : 391-395.

Beekeeping for Dummies (econd edition). Blackiston H 2009. John Wiley and Sons Australia Ltd, Camberwell.

Benachour, Kamel Louadi, and Michaël Terzo. "Rôle des abeilles sauvages et domestiques (Hymenoptera: Apoidea) dans la pollinisation de la fève (*Vicia faba* L. var. major) (Fabaceae) en région de Constantine (Algérie)." *Annales de la Société entomologique de France*. Vol. 43. No. 2. Taylor & Francis Group, 2007.

Bendifallah, Leila et al. "Biological Activity of the *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) Essential Oil on *Varroa destructor* Infested Honeybees." *Plants* (2018).

Berkini, Zohra-galem, hámi hálima, and Berkani Mohamed Laid. "Effet du Climat sur l'Évolution des Populations de *Varroa destructor* chez l'Abeille *Apis mellifera intermissa* L. dans les Différents Écosystèmes de l'Algérie." *Silva Lusitana* 21.2 (2013).

Boecking, Otto, and Marla Spivak. "Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud." *Apidologie* 30.2-3 (1999): 141-158.

Bogdanov, S., et al., "Residues in honey after application of thymol against *Varroa* using the Frakno Thymol Frame." *American bee journal (USA)* (1998).

Bogdanov, Stefan, Anton Imdorf, and Verena Kilchenmann. "Residues in wax and honey after Apilife VAR® treatment." *Apidologie* 29.6 (1998): 513-524.

Bogdanov, Stefan, et al. "Determination of residues in honey after treatments with formic and oxalic acid under field conditions." *Apidologie* 33.4 (2002): 399-409.

Bogdanov, Stefan. "Contaminants of bee products." *Apidologie* 37.1 (2006): 1-18.

Bolli, H. K., et al. "Action of formic acid on *Varroa jacobsoni* Oud. And the honeybee (*Apis mellifera* L)." *Apidologie (France)* (1993).

Bonté, Frédéric, and Alexis Desmoulière. "Le miel: origine et composition." *Actualités pharmaceutiques* 52.531 (2013): 18-21.

Bourkhiss, m. B., hnach, m., paolini, j., costa, j., farah, a., & satrani, b. (2010). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. Bulletin de la société royale des sciences de liège.

Bousbia, N. "Extraction et Identification de Quelques Huiles Essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Tym, Romarin): Etude de leurs activités antimicrobiennes." *Th. magister, INA, Alger*(2004).

Boutang, Yann Moulrier. *L'abeille et l'économiste*. Carnets nord, 2010.

Brodshneider, robert, and karl crailsheim. "Nutrition and health in honey bees." *Apidologie* 41.3 (2010): 278-294.

Brødsgaard, c., p. kristiansen, and H. Hansen. "Efficacy of vegetable oils as 'soft chemical' acaricides against *Varroa jacobsoni* infesting honey bees." *Acarology IX International Congress of Acarology*. 1994.

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Eds Tec&Doc (2009). 4 ème éd.

Calderone n.w., spivak m., Plant extracts for control of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the Western honey bee (Hymenoptera: Apidae), *J. Econ. Entomol.* 88 (1995) 1211-1215.

Calderone, nicholas w. "Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)." *Journal of Economic Entomology* 92.2 (1999): 253-260.

Calderone, nicholas w., and Medhat E. Nasr. "Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in a temperate climate." *Journal of Economic Entomology* 92.3 (1999): 526-533.

Calderone, Nicholas W., William T. Wilson, and Marla Spivak. "Plant extracts used for control of the parasitic mites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)." *Journal of Economic Entomology* 90.5 (1997): 1080-1086.

Campbell n.a. (1995). **Biologie** – Adaptation et révision scientifique de Richard Mathieu. Edition DeBoeck Université, Bruxelles, Belgique : 598-634 ; 982- 999.

Chang, Chia-Chi, et al. "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods." *Journal of food and drug analysis* 10.3 (2002).

Chapleau, Jean-Pierre. "Développement de la résistance naturelle de l'abeille à la varroase et aux pathologies du couvain." (2002).

Charrière, Jean-Daniel, and Anton Imdorf. "Oxalic acid treatment by trickling against Varroa destructor: recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions." *Bee world* 83.2 (2002): 51-60.

Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor Références bibliographiques 48 activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183-190.

Contre, essai thérapeutique DE LA FLUMETHRINE, and CHEZ L'ABEILLE LE VARROA. "Mots clés: Varroase, *Apis mellifica*, traitement, flumethrine, Algérie." (2017).

Dadant & Sons, inc., 1992, The hive and the honey bee, Hamilton, Illinois.

Delgado, Ospina, et al. "Relationship between refractive index and thymol concentration in essential oils of *Lippia organoides* Kunth." *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences, ex Agro-Ciencia* 32.2 (2016): 127-133.

Della Vedova, G., and N. Milani. "39. Die Wirksamkeit des Produkts Apiguard® gegen *Varroa jacobsoni* und dessen Verträglichkeit für die Bienen." *Apidologie* 30.5 (1999): 438-440.

Donzé, Gérard, Peter Fluri, and Anton Imdorf. "Un si petit espace, une si grande organisation: la reproduction de *Varroa* dans le couvain operculé de l'abeille." *Abeille de France* 833 (1998): 19-24.

Elzen, Patti J., et al. "Amitraz resistance in varroa: new discovery in North America." *American Bee Journal* (1999).

Emsen, Berna, and Ahmet Dodoglu. "The effects of using different organic compounds against honey bee mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) on colony developments of honey bee (*Apis mellifera* L.) And residue levels in honey." *J Anim Vet Adv* 8.5 (2009): 1004-1009.

Engels, W., et al. "Effect of drone brood removal on *Varroa* infested honeybee colonies [biological control]." *Apidologie (France)* (1984).

Fakhimzadeh, kamran. "Potential of super-fine ground, plain white sugar dusting as an ecological tool for the control of varroasis in the honey bee (*Apis mellifera*)." *American Bee Journal* 140.6 (2000): 487-491.

Fernandez x., chemat f. La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 2012

Floris, Ignazio, et al. "Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues." *Journal of economic entomology* 97.2 (2004): 187-191.

Fries, I. "Short-interval treatments with formic acid for control of *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies in cold climates." *Swedish Journal of Agricultural Research (Sweden)* (1989).

Fries, Ingemar, Klaus Wallner, and Peter Rosenkranz. "Effects on *Varroa jacobsoni* from acaricides in beeswax." *Journal of apicultural research* 37.2 (1998): 85-90.

Gaidi ishak, Goucem chouaib, etude de l'activité larvicide des huiles essentielles du *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Cluex pipiens*, université de Larbi Tebessi Tebessa 2017

Garedew, Assegid, Erik Schmolz, and Ingolf Lamprecht. "Microcalorimetric and respirometric investigation of the effect of temperature on the anti-Varroa action of the natural bee product-propolis." *Thermochimica Acta* 399.1-2 (2003): 171-180.

Garneau F.X. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique. Corporation La seve, Université du Québec à Chicoutimi 2005

Ghasemi, Vahid, Saeid Moharramipour, and Gholamhosein Tahmasbi. "Biological activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)." *Experimental and Applied Acarology* 55.2 (2011): 147-154.

Goodwin N., Eaton C.V. (1999) Control of *Varroa*, A Guide for New Zealand Beekeepers Ministry of Agriculture and Forestry.

Grancher.morel j.m. Traité pratique de phytothérapie. 2008.

Hanley, Alexandre, and Jean Duval. "LA VARROASE (DES ABEILLES)." *Ecological Agriculture Projects. Vol. AGRO-BIO-370-08* (1995).

Hauser, H., and Y. Lensky. "The effect of the age of the honey bee (*Apis mellifera* L) queen on worker population, swarming and honey yields in a subtropical climate." *Apidologie* 25.6 (1994): 566-578.

Hernández, R. Martín, et al. "Short term negative effect of oxalic acid in" *Apis mellifera iberiensis*." *Spanish journal of agricultural Research* 4 (2007): 474-480.

Higes, Mariano, et al. "Negative long-term effects on bee colonies treated with oxalic acid against *Varroa jacobsoni* Oud." *Apidologie* 30.4 (1999): 289-292.

Hoppe, H. *Control of Varroa with a Thermal Treatment in Combination with Wintergreen Oil*. Diss. Dissertation. Justus Liebig University, Giessen, Germany, 1990.

Hoppe, H., and W. Ritter. "The use of heat and winter green oil for the treatment of varroaosis." *Tieraerztliche Umschau (Germany, FR)* (1989).

Huang, Mou-Tuan, Thomas Ferraro, and Chi-Tang Ho. "Cancer chemoprevention by phytochemicals in fruits and vegetables: an overview." *ACS symposium series*. 1994.

Huang, Shuai, et al. "Recent advances in the chemical composition of propolis." *Molecules* 19.12 (2014): 19610-19632.

Hyppolyte Auger, Séparation des différents constituants d'un mélange, extraction liquide-liquide, présentation générale de la manipulation – Lycée Jean Dautet. 2018.

Imdorf, A., V. Kilchenmann, S. Bogdanov, B. Bachofen, and C. Beretta. 1995. Toxic effects of thymol, camphor, menthol and eucalyptol on *Varroa jacobsoni* Oud and *Apis mellifera* L in a laboratory test. *Apidologie* 26: 27-31.

Imdorf, Anton, et al. "Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies." *Apidologie* 30.2-3 (1999): 209-228.

Jalas j., 1971 - Note of *Thymus* L. (*Labiatae*) in Europe.I. Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*, N° 64, pp. 199-215.

Johnson, Reed M., Henry S. Pollock, and May R. Berenbaum. "Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*." *Journal of economic entomology* 102.2 (2009): 474-479.

Kabouche a., kabouche z. et bruneau c., 2005 - *Analysis of the essential oil of Thymus numidicus (Poiret) from Algeria. Flavour and Fragrance Journal, N° 20, pp. 235-236.*

Kacániová, Miroslava, et al. "The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia." *Archives of Biological Sciences (Serbia)* (2012).

Kaid slimane I. L., 2004. Contribution à l'étude de la composition chimique et du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Cistus ladaniferus* de la région de Tlemcen, Mémoire ing. d'état en Biologie, Option : Contrôle de Qualité et Analyse. Univ. Tlemcen, pp: 23-25.

Kaloustian j., hadji-minaglou F. La connaissance des huiles essentielles. Qualitologie et aromathérapie. Springer, 2012.

Kraus, B., and R. E. Page Jr. "Effect of vegetable oil on *Varroa jacobsoni* and honey bee colonies." *Bee Science* 3.4 (1995): 157-161.

Kraus, Bernhard, and Stefan Berg. "Effect of a lactic acid treatment during winter in temperate climate upon *Varroa jacobsoni* Oud. And the bee (*Apis mellifera* L.) colony." *Experimental & Applied Acarology* 18.8 (1994): 459-468.

Lalami, abdelhakim el ouali, et al. "Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain: *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis*." *Les technologies de laboratoire* 8.31 (2013).

Le Conte, Yves, et al. "Oil spraying as a potential control of *Varroa jacobsoni*." *Journal of apicultural research* 37.4 (1998): 291-293.

Lee, s-j., umano k, shibamoto T, and Lee K 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91 (1): 131–137.

Les abeilles, comment les choisir & protéger de leurs ennemis Auteurs : P.Medori et M.E.Colin Editions : J.B. Ballière, 1982. P 101, 101-102.

Lodesani, M. "Control strategies against *Varroa* mites." *Parassitologia* 46.1-2 (2004): 277-279.

Lodesani, Marco, et al. "Acaricide residues in beeswax after conversion to organic beekeeping methods." *Apidologie* 39.3 (2008): 324-333.

Loglio, G., and E. Pinessi. "On the use of wheat flour for an ecological control of *Varroasis*." *Apicolt. mod* 82 (1991): 185-192.

Lutte mécanique contre le Varroa : Piégeage dans le couvain mâle BALLIS Alexis - Conseiller technique apicole - Chambre d'Agriculture d'Alsace – 25/11/2010.

Macedo, P. A., and M. D. Ellis. "Detecting and assessing *Varroa* mite infestations by using powdered sugar to dislodge mites." *Am. Bee J* 140 (2000): 906.

MAF "A Review of Treatment Options For Control of *Varroa* Mite in New Zealand ". New Zealand Ministry of Agriculture and Forestry (2001).

Mallick alice. *Action sanitaire en production apicole: gestion de la varroose face à l'apparition de résistance aux traitements chez *Varroa destructor*.* Diss. 2013.

Martel, a.c., zeggane, s., aurieres, c., drajnudel, P., Faucon, J.P., Aubert, M., 2007. Acaricide residues in honey and wax after treatment of honey bee colonies with Apivar (R) or Asuntol (R) 50. *Apidologie* 38 (6), 534–544.

Martin, stephen j. "Varroa destructor reproduction during the winter in *Apis mellifera* colonies in UK." *Experimental & applied acarology* 25.4 (2001): 321-325.

Matilla, H. R. "Trials of apiguard, a thymol-based miticide Part 2. Non-target effects on honey bees." *American Bee Journal* 140.1 (2000): 68-70.

Maul, V., A. Klepsch, and U. Assmann-Werthmueller. "The trapping-comb technique as part of bee management under severe infestation by *Varroa jacobsoni* Oud." *Apidologie (France)*(1988).

Melathopoulos, Adony P., et al. "Comparative laboratory toxicity of neem pesticides to honey bees (Hymenoptera: Apidae), their mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae), and brood pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascophaera apis*." *Journal of Economic Entomology* 93.2 (2000a): 199-209.

Melathopoulos, adony p., et al. "Field evaluation of neem and canola oil for the selective control of the honey bee (Hymenoptera: Apidae) mite parasites *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae)." *Journal of economic entomology* 93.3 (2000b): 559-567.

Milani, N. "Management of the resistance of *Varroa* mites to acaricides." *Mites of the Honey Bee. Dadant, Sons, Hamilton, USA* (2001b): 241-250.

Milani, norberto. "Activity of oxalic and citric acids on the mite *Varroa destructor* in laboratory assays." *Apidologie* 32.2 (2001a): 127-138.

Moussaoui, Kamel, et al. "Estimation de la toxicité des d'huiles essentielles formulées de thym et d'eucalyptus et d'un produit de synthèse sur le parasite de l'abeille tellienne *varroa destructor* (arachnida, varroidae)." *Agrobiologie* 4 (2014): 17-26.

Murray, tomás e., michael kuhlmann, and Simon G. Potts. "Conservation ecology of bees: populations, species and communities." *Apidologie* 40.3 (2009): 211-236.

Mutsaers, Marieke, et al. *AD42E Bee products*. Agromisa Foundation, 2005.

Nanetti, A., et al. "Oxalic acid treatments for varroa control (a review)." *Apiacta* 1 (2003): 2003.

Nasr, M., and K. Wallner. "Residues in honey and wax. Implications and safety." *Proc. of the North American Apicultural Research Symposium, Am. Bee J. Vol. 143.* 2003.

Nazzi, Francesco, Giorgio Della Vedova, and Mauro D'Agaro. "A semiochemical from brood cells infested by *Varroa destructor* triggers hygienic behaviour in *Apis mellifera*." *Apidologie* 35.1 (2004): 65-70.

Nikolić, m., glamočlija, J., Ferreira, I. C., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Marković, T., ... & Soković, M. (2014).

Oie (2008) Varroosis of honeybees. OIE Terrestrial Manual Chapter 2.2.7. 465-466.

Oster, J-P., et al. "Intérêt d'un traitement par omalizumab dans le cadre d'une immunothérapie spécifique. Recueil d'expérience et analyse de la littérature." *Revue Française d'Allergologie* 54.5 (2014): 347-355.

P. Robaux intitulé *Varroa et varroatose*, éditions Opida, 1986.

Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 39(3), 167-170.

Pinto, E., Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Palmeira, A., & Gonçalves, M. J. (2007). In vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Industrial Crops and Products*, 26(2), 135-141.

Porrini, c., sabatini, a.g., girotti, s., ghini, s., medrzycki, p., grillenzoni, f., bortolotti, l., gattavecchia, e. et celli, g. (2003a). Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination, *Apiacta*, volume 38, p. 63-70.

Quezel p., santa S., 1963 - Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, Tome 1 et 2, 1170p.

Quezel, P. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

R.Hummel et M.Feltin. Les logement de nos abeilles (2014) consulté sur le 11/07/2019 sur le site <https://www.lesruchesdedabo.fr/description-des-diff%C3%A9rentes-ruches/>

Rademacher, Eva, and Marika Harz. "Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies—a review." *Apidologie* 37.1 (2006): 98-120.

Ramirez, B. W. "Conformation of the ambulacrum of *Varroa jacobsoni* Oud and mite control with dusts." *American Bee Journal* 134.12 (1994): 835.

Rangel, Juliana, and Lauren Ward. "Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*." *Journal of Apicultural Research* 57.3 (2018): 425-432.

Rasooli, I., Rezaei, M. B., & Allameh, A. (2006). Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International journal of infectious diseases*, 10(3), 236-241.

Rosenkranz, Peter, Pia Aumeier, and Bettina Ziegelmann. "Biology and control of *Varroa destructor*." *Journal of invertebrate pathology* 103 (2010): S96-S119.

Ruffinengo, Sergio, et al. "Essential oils toxicity related to *Varroa destructor* and *Apis mellifera* under laboratory conditions." *Zootecnia Tropical* 25.1 (2007): 63-69.

Ruttner, F. (1975) African races of honeybees. Proceedings of the Twenty-fifth International Beekeeping Congress, Bucharest, Romania, pp 325-344.

Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978) Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera* L *Apidologie* 9: 363 -381.

Sammataro, Diana, et al. "The resistance of varroa mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase." *International Journal of Acarology* 31.1 (2005): 67-74.

Schroeder, A., Wallner, K., Weber, D., 2004. Amitraz als *Varroa* zid – Einfluss auf die Honigqualität. *Apidologie* 35 (5), 535–536.

Schroeder, Declan C., and Stephen J. Martin. "Deformed wing virus: The main suspect in unexplained honeybee deaths worldwide." *Virulence* 3.7 (2012): 589-591.

Schulz S., Anwendung thymolhaltiger Varroazide bei Magazinvölkern, *Dtsch. Bienen J.* 1 (1993) 18-20.

Sidali Benazzeddine, Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera Tenebrionidae). 2010 Ecole nationale supérieure agronomique el Harrach d'Alger.

Singh, A. K., et al. "Fungitoxic activity of some essential oils.

Skinner, J. A., J. P. Parkman, and M. D. Studer. "Evaluation of honey bee miticides, including temporal and thermal effects on formic acid gel vapours, in the central south-eastern USA." *Journal of Apicultural Research* 40.3-4 (2001): 81-89.

Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. 2004. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, 68 (5) : 1113- 1134.

Teuscher, Anton R, Lobstein A., 2005 - Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, Lavoisier, 522p.

Thompson, Helen M., et al. "First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK." *Apidologie* 33.4 (2002): 357-366.

Training Modules on Honey Production, Diagnostic and Control of Bees Diseases & Pests and Pollination Services, using AU-IBAR e-learning System” (2016). 40-41.

Trouiller, Jérôme. "Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe." *Apidologie* 29.6 (1998): 537-546.

Valérie Breton, Lutter contre le varroa de manière raisonnée. GDS Aquitaine. (2016).

Van Engelsdorp, Dennis, Robyn M. Underwood, and Diana L. Cox-Foster. "Short-term fumigation of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with formic and acetic acids for the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae)." *Journal of Economic Entomology* 101.2 (2008): 256-264.

Varroa destructor changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts ; Y. Le Conte, Z. Y. Huang, M. Roux, Z. J. Zeng, J.-P. Christidès and A.-G. Bagnères ; *Biology Letters* ; 3 juin 2015.

Von Frisch K. (2011). Vie et mœurs des abeilles. Editions Albin Michel, Paris, 21-66
Wallner, K. "Foundation causing honeybee brood damage." *ICPBR 9. International Symposium York*. Vol. 30. 2005.

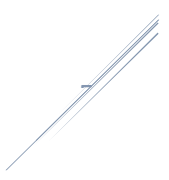
Wallner, K., 2000. *Varroa zide im Bienenwachs. Die aktuelle Situation in 10 europäischen Ländern.* *Apidologie* 31, 613–615.

Wallner, Klaus. "Varroacides and their residues in bee products." *Apidologie* 30.2-3 (1999): 235-248.

Whittington, Robin, et al. "Evaluation of the botanical oils neem, thymol, and canola sprayed to control *Varroa jacobsoni* Oud.(Acari: Varroidae) and *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (*Apis mellifera* L., Hymenoptera: Apidae)." *American Bee Journal* 140.7 (2000): 567-572.

William Lea "The National Bee Unit Managing Varroa". The Animal and Plant Health Agency. UK. (2017).

Winston, Mark I. 1987. The biology of the honey bee. Harvard University Press. 281 p.





Annexes

ANNEXE 01

Matériel utilisé pour la formulation d'un bioacaricide :

- Graisse animal.
- Micropipette.
- Eau distillé
- Huile essentielle.
- Propolis.
- Plaque chauffante + récipient.
- Abaisses langues.
- Tissu filtre en coton.
- Flacons.
- Boite hermétiques.
- Ethanol dilué à 70°.

ANNEXE 02

Tableau 01 : Concentration des traitements bioacaricide en principes actifs.

Traitement	Concentrations en huile essentielle		
Huile essentielle uniquement	HC1	25µL	
	HC2	50µL	
	HC3	75µL	
Mélange huile essentielle et Propolis	MC1	25µL	+ Extrait de Propolis dilué a 1% dans de l'éthanol à 70 °
	MC2	50µL	
	MC3	75µL	

ANNEXE 03

Tableau 02 : Répartition des ruches selon traitement et les concentrations..

TRAIT	CONCENT	REP
HUILE ESSENTIELLE	HC1	1a
		2a
		3a
		4a
		5a
	HC2	6a
		7a
		8a
		9a
		10a
	HC3	11a
		12a
		13a
		14a
		15a
HUILE ESSENTIELLE + PROPOLIS	MC1	16a
		17a
		18a
		19a
		20a
	MC2	21a
		22a
		23a
		24a
		25a
	MC3	26a
		27a
		28a
		29a
		30a
CHIMIQUE	CHE	31a
		32a
		33a
		34a
		35a
TEMOIN		36a
		37a
		38a
		39a
		40a