

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université "Blida 01"

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en  
Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et Produits Naturels

Thème :

**Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de  
la sauge (*Salvia officinalis*)**

Présenté par : Melle BEZZINA Raziqa

Date de soutenance :

Et Mlle CHARAOUI Zohra

09/2017

Devant les membres de jury :

-Mme MEFTI H	MCA	USDB 1	Président.
-Mme MOUMEN S	MCA	USDB 1	Examinatrice.
-Mme BELGUENDOZ R	MCB	USDB 1	Promotrice.
-Mer SADAK D	DOCTORANT		Co-promoteur

Promotion 2016/2017

## *Remerciements*

*Nous remercier dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour pouvoir accomplir ce modeste travail.*

*N'adresse mon vif remerciement, en tout premier pour leurs patiences et les précieux conseils pour m'avoir dirigée tout au long de ce travail, ma promotrice Mme BELGUNDOUZ.R.*

*Nous tiens à remercier le Président du jury Mme MEFTI H, qui a bien voulu nous honorer par leur évaluation de ce mémoire.*

*Un grand merci à Mme MOUMEN S, chef d'option de Biotechnologie des plantes médicinales et aromatiques de m'avoir examiné mon mémoire.*

*Nos remerciement Mme ALLAL L responsable du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de m'avoir accueilli dans son laboratoire et d'avoir mis disposition les conditions matérielles nécessaires à l'achèvement de ce modeste travail.*

*Aux personnels de la station expérimentale du Département des Biotechnologies, Faculté Sciences Naturelles, Université Blida I, Précisément Mre GHRIBI YOUCEF responsable de l'apiculture, je remercier aussi le doctorat SADAK D.*

*Nous remercier tout d'abord Monsieur AOUNI D, chef de laboratoire centrale de hôpital Kolia, et Monsieur TEFAHI D chef de laboratoire d'Hygiène BLIDA d'avoir accepté notre stage avec beaucoup d'attention et de patience et pour la confiance qu'il m'avait témoigné, sans oublier sa disponibilité et son soutien permanent.*

*Nous voudrais ensuite remercier Mme GHANAI R et Mme CHEBATA N, pour toutes les aides et les conseils, nous vous remercier tous les deux avec reconnaissance.*

*Nous remercier Monsieur BENDALI a tous les facilement pour les étudiants, et nous remercier ensuite Mme NAFISSA l'ingénieure de laboratoire de génie chimique de faculté des sciences de technologies.*

*Enfin, je remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Ce résultat, fruit de plusieurs années d'études, d'effort pour lesquelles le mérite revient d'abord à ceux qui m'ont donné la vie et m'ont accompagné durant mon cursus.*

*Cet espace est très limité pour exprimer ma gratitude, et mes pensées très fortes pour eux, pour avoir été toujours présent dans ma vie tout en partageant les moments de joie et de peine.*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Aux êtres les plus chers, les plus proches de moi que moi-même.*

*A la femme la plus merveilleuse au monde, tu as pris soin de moi, tu m'as comblé d'amour et de tendresse, depuis naissance et c'est grâce à toi que j'ai pu devenir ce je suis, je te remercie maman, je t'aime et que Dieu te garde pour moi.*

*A mon père qui était mon exemplaire et le reste pour toujours que Dieu te protège.*

*A mes chères sœurs : Aicha et Hanane, et mes frères : Mouloud, Boualam et Mouhamed. Pour toute le courage.*

*A toute la famille BEZZINA surtout mon grand père et ma grand-mère et la famille KADI surtout ma tante BAGHTA et ma tante SAMIA, a tout la famille CHARAOUI grand et petit surtout CHARAOUI Hamid.*

*A mes cheers ami(e)s : Djoghla Meriem, MIKARZIA Meriem, BEN HADJ TAHRE Salma et Manel, Hadjira, RAGHISSA habiba et Rabiaa et Djalme Malika.*

*A tous mes collègues de la promotion master 2 Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et Produits Naturels.*

*A tous ceux qui m'ont connaissance de près ou de loin.*

*Raziga*

## RESUME

Les vertus thérapeutiques des extraits naturels chez les végétaux nous intéressés à déterminer les activités biologiques et les caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielle et polyphénolique de l'espèce *Salvia officinalis* de la sauge. Les résultats ont révélé que ce dernier possède des effets thérapeutiques très importants, notamment l'activité acaricides. L'effet acaricide de l'huile essentielle contre le *Varroa jacobsoni* a donné un taux de mortalité meilleur 21.07% par la dose D1 (5%), par contre le traitement chimique effectué par l'Apivar a donné un résultat (0.33 %) qui est proche des autres doses restes (D2 : 4.96 % et D3 :4.96 %). L'évaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode du piégeage le radicale libre DPPH montre que les extraits phénoliques possèdent une activité antioxydant puissante (71 %) en comparant avec celle du l'acide ascorbiques (77 %). Par ailleurs, l'étude de la sensibilité des souches a révélé une activité antimicrobienne souches testé (*Staphylococcus Sp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus rivalz*, *Fusarium*) mais, le résultat déférent d'une espèce à un autre. Ces résultats obtenus se sont avérés très encourageants et démontrent la richesse des extrait de cette plante en l'huile essentielle et phénolique, pour cela on pourrait exhorter la communauté scientifique algérienne à prendre conscience des trésors des produits de terroir de notre pays.

**Mots clés :** *Salvia officinalis*, huile essentielle, polyphénol, activités biologiques, caractéristiques physicochimiques.

## ABSTRACT

Considering the therapeutic virtues of these compounds we were interested to determine their content of the following plant for the spice of *Salvia officinalis*. We first of all carried out the physico-chemical characteristics, of the product which revealed that the latter have very important therapeutic effects in particular the antiacaricide about *Varroa jacobsoni* where the rate of mortality is 21.07% about D1 (5%), compared of chemical treatment effected about the Apivar result (0.33 %) when are the same of the rests concentration (D2: 4.96 % and D3: 4.96 %). Moreover, the evaluation of the antioxidant activity by the method with the DPPH shows that the extract polyphenolic have a powerful antioxidant activity (71 %) while comparing with that ascorbic acid (77 %). In addition, the study of the sensibility of the microbiological strains antimicrobial and antifungal activity of certain stocks study (*Staphylococcus Sp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus niger*, *Fusarium*) but the result is different about on other. These results obtained proved very encouraging and show the richness of this plant in phenolic compounds and essential oil, one could exhort the Algerian scientific community to become aware of the treasures of the products of soil of our country.

**Key words:** *Salvia officinalis*, essential oil, polyphenol, biological activities, physico-chemical characteristics

## ملخص

ان النظر في الفصائل العلاجية للمركبات الطبيعية والاهتمام بتحديد محتواها مهم في معرفة قيمتها ومن اجل ذلك اخترنا القيام بدراسة النبتة التالية شجيرة المرمية والملقبة بسواك النبي و التي تحمل الاسم *Salvia officinalis* ان التحاليل الفيزيائية و الكيميائية لهذه النبتة ساعدت على كشف محتواها مثل الفحوص الطبية الدوائية لاتي اجريت على الزيوت الاساسية لهذا الاخير الذي له اثار علاجية مهمة جدا ولا سيما تأثير العقاقير المضادة للفطريات والتي تقم بالتطفل على النحل المنتج للعسل و تقوم بتغيير نوعية العسل على مستوى الخلية مع العلم ان السلالة الوحيدة التي تنتج العسل حيث لاحظنا انخفاض معدل الطفيلي بعد استعمال العلاج خاصة من خلال استعمال التركيز الاول (21. 07% :D1 :5%) و الذي اعطى نتيجة تضاهي العلاج الكيميائي (0.33 %) l'Apivar مع باقي التراكيز الاخرى : D2 4.96 % و 4.96 % : D 3 و علاوة على ذلك اظهر تقييم النشاط المؤكسد من خلال طريقة الحد من الجذور الحرة باستعمال مستخلص الاحماض البوليفينولية (71 %) ان لديه القدرة على اكسدة قوية ضد الجذر الحر DPPH مقارنة مع المؤكسد الكيميائي الذي اظهر نتيجة مقارنة له (77 %) و بالإضافة الى ذلك كشفت دراسة حساسية ضد النشاط الميكروبي تأثير الزيوت الطبيعية على تطور بعض البكتيريا و ايضا بعض الطفيليات (*Staphylococcus Sp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Sp*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus rivalz*, *Fusarium*) النتائج التي تم الحصول عليها مشجعة للغاية وتظهر ثراء من هذه المواد الطبيعية سواء المركبات الفينول او الزيوت الاساسية يمكن للمرء أن يحث المجتمع العلمي الجزائري لتصبح على بيعة من الكنوز من المنتجات من تراب بلدنا

**الكلمات المفتاحية :** *Salvia officinalis*، الزيوت الاساسية، البولي فينول ، الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، النشاط الحيوي

## Liste des Abréviations

- **A**: Nombre des varroas morts après un mois.
- **A.F.S.S.A**: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
  - **A p** : Apivar
  - **A.R.L.A.S.C** : Agence de Réglementation de Lutte Antiparasitaire de la Santé Canadienne.
- **B**: Mortalité moyenne du varroa par jour.
  - **BPAM** : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales
- **C** : Population des varroas estimés.
- **C.T.C.A.R**: Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale.
- **Cpt** : Comptage.
  - **C P G** : Chromatographie a la Phase Gazeuse
- **D.D.L** : Degré De Liberté.
- **DWV**: Deformed Wing Virus
- **F.A.O**: Feed Agriculture Organization.
- **F.A.Q** : Fédération des Apiculteurs de Québec.
- **I.T.L.V** : Institut Technique d'Elevage.
- **I.A.P.V** : le virus israélien de la paralysie aigue.
  - **IR** : indice de réfraction
- **P** : Population des abeilles estimées
  - **T** : Témion
- **X** : La moyenne.
- **σ** : L'écart type.

**La liste des figures**

Figure 1 : Aspect de <i>Salvia officinalis</i> L (original 2017).....	05
Figure 2 : La fleur et la feuille de <i>Salvia officinalis</i> .....	06
Figure 3: Schéma d'une abeille .....	14
Figure 4 : Femelle de varroa sur l'abeille du stade larvaire (à gauche) et stade nymphale (à droite).....	19
Figure 5 : <i>Varroa jacobsoni</i> (adulte femelle).....	20
Figure 6 : <i>Varroa jacobsoni</i> (adulte mâle).....	21
Figure 7 : Le cycle évolutif du <i>varroa jacobsoni</i> .....	22
Figure 8 : Appareillage d'hydro distillation (clévenger) .....	27
Figure 9 : Présentation de la colonie d' <i>Apis mellifera intermissa</i> .....	33
Figure 10 : Abeille infesté par le varroa .....	34
Figure 11 : Disposition de 10 ruches sur le site d'expérimentation .....	35
Figure 12 : Préparation du matériel végétal.....	36
Figure 13: Hydro-distillateur .....	37
Figure 14 : Protocole expérimental d'extraction, de dosage et identification de l'extrait polyphénolique.....	38
Figure 15: l'extraction de composé phénolique par les feuilles sèches de la sauge.....	39
Figure 16: Schéma présente les étapes de réalisation d'une coupe histologique de double Coloration.....	44
Figure 17: Disposition de lanières en papier buvard portant le traitement, sur les langes graissées.....	46
Figure 18 : Disposition des 02 lanières d'Apivar dans la ruche.....	47
Figure 19 : Méthode d'utilisation des langes et du comptage du varroa.....	48
Figure 20 : Estimation du nombre d'abeilles dans une colonie.....	48
Figure 21 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de Pétri.....	52
Figure 22 : Structure chimique du radical libre DPPH.....	55

Figure 23: Réduction du radical DPPH•.....	56
Figure 24 : Coupe transversale dans le pétiole de <i>Salvia officinalis</i> observé en microscope photonique : (G X 400).....	60
Figure 25 : Toxicité des huiles essentielles de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> sur l'abeille.....	61
Figure 26 : Histogramme représente le taux d'infestation initial des différents lots avant traitement par l'HE de la sauge.....	63
Figure 27 : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'huile de la sauge à la concentration 5%.....	65
Figure 28 : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'huile de la sauge à la concentration 15%.....	66
Figure 29 : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'huile de la sauge à la concentration 20%.....	67
Figure 30: Evolution de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par Apivar....	68
Figure 31 : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches pour le lot témoin...	68
Figure 32 : Comparaison entre le taux de mortalité des 05 lots.....	69
Figure 33 : Evaluation des taux de mortalité des ruches traitées avec l'huile essentielle de la sauge et le produit chimique (Apivar).....	70
Figure 34 : Evolution de taux de mortalité des lots traités avec l'huile essentielle de la sauge et le produit chimique (Apivar).....	71
Figure 35 : Comparaison entre les taux de mortalité de varroa par rapport au taux d'abeilles après traitement par l'huile essentielle de la sauge.....	72
Figure 36: La zone d'inhibition de <i>Escherichia coli</i> .....	74

### La liste des tableaux

Tableau 1 : Les molécules bioactives les plus importantes d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	09
Tableau 2 : Caractéristiques physique-chimique des huiles essentielles de la <i>Salvia officinalis</i> .....	09
Tableau 3: Activité biologique de quelques composés des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> .....	10
Tableau 4: Le temps nécessaire au développement des différentes castes de la ruche.....	15
Tableau 5 : Maladies d'abeille provoquée par les prédateurs, parasites, champignons, virus et bactéries.....	17
Tableau 6 : Bio-activité de certains composés phénoliques.....	30
Tableau 7: Les souches des microorganismes étudiés.....	34
Tableau 8 : Protocole expérimental de traitement.....	47
Tableau 9 : préparation de différentes dilutions.....	50
Tableau 10 : les étapes de résiliation l'activité antimicrobienne.....	53
Tableau 11: la méthode de préparation des dilutions de l'extrait phénolique.....	54
Tableau 12: Masse, rendement et couleur de l'extrait obtenu.....	58
Tableau 13 : Résultat de l'indice de réfraction de l'huile essentielle de la sauge .....	59
Tableau 14: Résultat de l'indice d'acide de l'huile essentielle de la sauge .....	59
Tableau 15 : Estimation du taux initiale de l'infestation des ruches et des lots des abeilles par le parasite de varroa avant traitement par l'huile essentielle de la sauge.....	62
Tableau 16 : Diamètre des zones d'inhibition ZI du développement des différentes souches bactériennes traitées par les trois dilutions d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	73
Tableau 17 : Résultats du piégeage le radicale libre par DPPH.....	76
Tableau 18 : Représentation de la concentration inhibitrice IC50%.....	77
Tableau 19 : Analyse de la variance par le test ANOVA sur la mortalité de varroa après traitement par l'huile essentielle de la sauge.....	78

---

---

## Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>01</b>
<b>CHAPITRE 01: <i>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</i> .....</b>	<b>03</b>
<b>PARTIE 01 : GENERALITES SUR <i>SALVIA OFFICINALIS L</i> .....</b>	<b>03</b>
1.1. Historique.....	03
1.2. Biologie de la sauge.....	03
1.2.1. Classification familiale de la sauge .....	03
1.2.2. Systématiques de <i>Salvia officinalis</i> .....	04
1.3. Description botanique.....	05
1.3.1. Le tige.....	05
1.3.2. Les feuilles.....	05
1.3.3. Les fleurs.....	05
1.3.4. Les fruits.....	06
1.3.5. Les racines.....	06
1.4. L'origine de la sauge .....	07
1.5. L'habitat de la sauge.....	07
1.6. Les exigences de la sauge.....	07
1.7. la Culture de la sauge.....	08
1.8. La récolte de la sauge.....	08
1.9. La structure sécrétrice d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis L</i> .....	08
1.10. La chémotype de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	08
1.10.1. Les molécules bioactives d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	09
1.10.2. Propriétés physico-chimique d'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> .....	09

1.10.3. Bio activité de quelques composés des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> ....	09
1. 11. Utilisation de l'huile essentielle de la sauge.....	10
1.11.1. Domaine phytothérapie.....	10
1.11.2. Domaine pharmaceutique.....	10
1.11.3. Domaine Agro alimentaire.....	10
1.11.4. Domaine médicinale.....	10
1.11.5. Domaine biologique.....	10
1.11.6. Domaine cosmétique.....	10
<b>PARTIE 02: PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA</b>	
2.1. Généralité sur l'abeille.....	11
2.1.1. Généralité.....	11
2.1.2. Systematique.....	11
2.1.3. Les races d'abeilles.....	11
2.1.3.1. Dans le monde.....	11
2.1.3.2. En Algérie.....	12
2.1.4. Morphologie et Anatomie.....	12
2.1.4.1. Morphologie Externe.....	12
2.1.4.1.1. La tête.....	12
2.1.4.1.2. Le thorax.....	13
2.1.4.1.3. L'abdomen.....	13
2.1.4.2. Anatomie Interne.....	13
2.1.4.2.1. Le système circulatoire.....	13
2.1.4.2.2. Le système respiratoire.....	13
2.1.4.2.3. Le système nerveux.....	14
2.1.4.2.4. Le système digestif et excréteur.....	14
2.1.5. Les Habitants de la ruche.....	14
2.1.5.1. La Reine.....	14
2.1.5.2. Les ouvrières.....	14
2.1.5.3. Les faux bourdons.....	14

2.1.6. Les produits de la ruche.....	14
2.1.6.1. Le miel.....	14
2.1.6.2. Le pollen.....	15
2.1.6.3. La gelée royale.....	15
2.1.6.4. La propolis.....	15
2.1.6.5. La cire.....	15
2.1.6.6. Le venin.....	15
2.1.7. Stades de développement.....	15
2.1.8. Situation actuelle de l'apiculture en Algérie.....	16
2.1.8.1 Relation entre l'abeille et la flore.....	16
2.1.8.2 Pollinisation.....	16
2.1.8.3 Importance de l'abeille en agriculture.....	16
2.1.8.4 Cause de mortalité des colonies d'abeilles.....	16
2.2. Présentation du parasite le Varroas.....	19
2.2.1. Historique.....	19
2.2.2. Systématique.....	19
2.2.3. Distribution de la maladie.....	20
2.2.3.1 Dans le monde.....	20
2.2.3.2. En Algérie.....	20
2.2.4. Morphologie du varroa.....	20
2.2.4.1. Femelle varroa.....	20
2.2.4.2. Mâle varroa.....	21
2.2.4.3. Les œufs.....	21
2.2.4.4. Les protonymphes.....	21
2.2.4.5. Les deutonymphes.....	21
2.2.5. Cycle évolutif du varroa vis-à-vis de celui de l'abeille.....	21
2.2.6. Effets et conséquences du varroa dans les colonies d'abeilles.....	23
2.2.6.1. Un effet mécanique.....	23
2.2.6.2. Un effet spoliateur.....	23

2.2.6.3. Un effet vecteur.....	23
2.2.7. Les symptômes.....	23
2.2.8. Modalités d'infestation.....	24
2.2.9. La lutte contre varroa.....	24
2.2.9.1 Lutte physique.....	24
2.2.9.2 Lutte chimique.....	24
2.2.9.3. Luttes biotechniques.....	25
2.2.9.4. Aromathérapie.....	25
2.2.10. Moment d'intervention.....	25
2.2.11. Impact économique.....	25
<b>PARTIE 03: LES COMPOSES AROMATIQUES</b>	
3.1. Les huiles essentielles.....	26
3.1.1 .Localisation et fonction des huiles essentielles .....	26
3.1.1.1. Répartition botanique.....	26
3.1.1.2. Localisation.....	26
3.1.1.3. Fonction des huiles essentielles.....	26
3.1.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	26
3.1.3. Classification des huiles essentielles.....	28
3.1.4. Activités biologiques étudiées de huile essentielle.....	28
3.1.4.1. Activités antiseptiques, antimicrobiennes et antiparasitaires.....	28
3.2. Les composés phénoliques.....	28
3.2.1. Définition.....	29
3.2.2. Classification des composés phénoliques.....	29
3.2.2.1. Les acides phénoliques.....	29
3.2.2.2. Les coumarines.....	29
3.2.2.3. Les quinones.....	29
3.2.2.4. Les tanins.....	29

3.2.2.5. Les flavonoïdes.....	29
3.2.2.6. Les anthocyanes.....	30
3.2.3. Rôles des composés phénoliques.....	30
3.2.3.1. Rôle nutritionnelle.....	30
3.2.3.2. Rôle physiologique et écologique.....	31
3.2.3.3. Rôle technologique.....	31
3.2.4. Les radicaux libres et le stress oxydant.....	31
3.2.4.1. Les antioxydants.....	31
3.2.4.2. Classification des antioxydants.....	31
3.2.4.2.1 Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action...31	
3.2.4.2.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique.....31	
3.2.4.3. L'évaluation de pouvoir antioxydant des plantes médicinales.....	32
<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>33</b>
<b>CHAPITRE 02 : MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>33</b>
1. Matériels.....	33
1.1 Matériels biologique.....	33
1.1.1. Les abeilles.....	33
1.1.2. Le parasite.....	33
1.1.3. Les microorganismes.....	34
1.2. Matériels végétal.....	34
1.2.1 L'huile essentielle.....	35
1.2.2. L'extrait phénolique.....	35
1.3. Matériels non biologique.....	35
1.3.1. Matériels apicoles.....	35
2. Méthodes.....	36
2.1. Méthodes d'extraction.....	36
2.1.1. Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	36

2.1.2. Méthode d'extraction des polyphénols.....	37
2.2. Détermination du rendement.....	39
2.2.1. Détermination du rendement en huile essentielle.....	39
2.2.2. Détermination du rendement des polyphénols.....	40
2.3. Caractérisations physiques et chimiques de la plante de la sauge et leur huile essentielle.....	40
2.3.1. Détermination de la teneur en eau de la plante.....	40
2.3.2. Détermination de l'indice de réfraction.....	41
2.3.3. Détermination de l'indice d'acide.....	42
2.4. Coupe histologique.....	43
2.5. L'étude Activité acaricide.....	45
2.5.1. Présentation de la zone d'étude.....	45
2.5.2. Critères de choix du site.....	45
2.5.3. Présentation du site.....	45
2.5.4. Les conditions de travail.....	45
2.5.5. Préparation des doses des huiles essentielles.....	46
2.5.6. Présentation des lots expérimentaux.....	47
2.5.7. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie.....	47
2.5.8. Méthode d'estimation du nombre d'abeilles dans une colonie.....	48
2.5.9. Méthode d'estimation du taux d'infestation d'une colonie.....	49
2.6. L'Activité Antimicrobienne.....	49
2.6.1. Stérilisation du matériel.....	49
2.6.2. Isolement des colonies.....	50
2.6.3. Préparation des dilutions.....	50
2.6.4. Préparation des disques.....	51
2.6.5. Préparation de milieu de culture.....	51
2.6.6. Préparation des antibiotiques.....	51

2.6.6.1. Préparation de l'antibactérienne.....	51
2.6.6.2. Préparation de l'antifongique.....	51
2.6.7. Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	51
2.6.7.1. Préparation de l'inoculum.....	51
2.6.7.2. Ensemencement et dépôt des disques.....	52
2.6.7.3. Lecture des antibiogrammes.....	52
2.7. Activité antioxydant.....	53
2.7.1. Activité anti-oxydante de composé phénolique d'extrait méthanolique.....	53
2.7.2. Préparation des dilutions de solution extrait.....	54
2.7.3. Préparation de témoin.....	54
2.7.3.1. Mesure de concentration de l'extrait.....	54
2.7.3.2. Préparation de solution mère de témoin.....	54
2.7.3.3. Préparation des dilutions de témoin.....	55
2.7.4. Préparation de solution control.....	55
2.7.5. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	55
2.7.6. Mesure de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50).....	56
2.8. Analyse statistique (Test d' ANOVA).....	57
<b>CHAPITRE 03 : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>58</b>
1. Evaluation du rendement.....	58
1.1. Evaluation du rendement de l'huile essentielle.....	58
1.2. Evaluation du rendement de l'extrait phénolique.....	58
2. Caractérisation physique et chimique de l'huile essentielle.....	59
2.1. Teneur en eau.....	59
2.2. Indice de réfraction.....	59
2.3. L'indice d'acide.....	59
3. Etude Hristo-anatomique.....	60
4. Activité acaricide.....	61

4.1. Test de toxicité des huiles essentielles sur les abeilles.....	61
4.2. Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches et lots.....	62
4.2.1. Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches avant traitement par l'HE de la sauge.....	62
4.2.2. Estimation du taux d'infestation initial des différents lots avant traitement par l'HE de la sauge.....	63
4.3. Evaluation de la mortalité de varroas dans différentes ruches.....	64
4.3.1. Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'HE de la sauge.....	64
4.3.2. Comparaison entre les lots .....	64
4.4. Pouvoir acaricide de l'huile essentielle.....	64
4.4.1. Le pouvoir acaricide après un mois d'exposition au traitement de l'huile essentielle.....	69
4.4.2. Evaluation des taux de mortalité dans les lots traités par l'huile essentielle et le produit chimique (Apivar).....	70
4.6. Comparaison entre les taux de mortalité de varroa et le pourcentage d'abeille après traitement par l'huile essentielle de la sauge.....	71
5. Activité antimicrobienne.....	72
5.1. Activité antibactérienne.....	73
5.2. Activité antifongique.....	74
6. Activité antioxydant.....	75
6.1. Piégeage de radicale DPPH.....	75
6.2. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux libre DPPH...	76
7. Analyse statistique.....	77
7.1. L'analyse statistique de la variance par le test ANOVA de l'effet des huiles essentielles sur la régulation des populations du varroa parasite de l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i> .....	77
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>79</b>

Les annexes

Références bibliographiques



# INTRODUCTION

### INTRODUCTION

Ces dernières années, l'intérêt croissant de l'utilisation des anti acaricides, des antioxydants et des antimicrobiens naturels a approuvé de nombreux chercheurs à s'intéresser aux composés actifs issus des matières végétales qui occupent de plus en plus une place importante dans le domaine thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit.

La famille des lamiacées est connue par ces propriétés antiseptiques désinfectantes et acaricides ainsi par leur effet antioxydant. La sauge est l'une des plusieurs plantes de la famille lamiacées dont se trouve l'espèce de *Salvia officinalis* L. qui est bien connue en Algérie pour cela en le choisir dans notre travail.

Ce travail a pour objectif de déterminer quelques effets biologiques de la sauge, de connaître peut-être quelques caractères physiques et chimiques des extraits de la plante qui lui confèrent les propriétés thérapeutiques.

Une étude analogue menée par **Hilan et al. (2006)** a indiqué que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* originaire du littoral libanais, est un liquide limpide, jaune pâle et fortement cinéoliques et celle de montagne est liquide limpide, jaune foncé et fortement cinolique alors que notre substance naturelle et liquide, incolore, camphrée et piquante. Les différences enregistrées peuvent être attribuées à l'origine géographique ou même au stade du cycle végétatif au moment de la récolte (**De Figueiredo et al., 2008**).

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

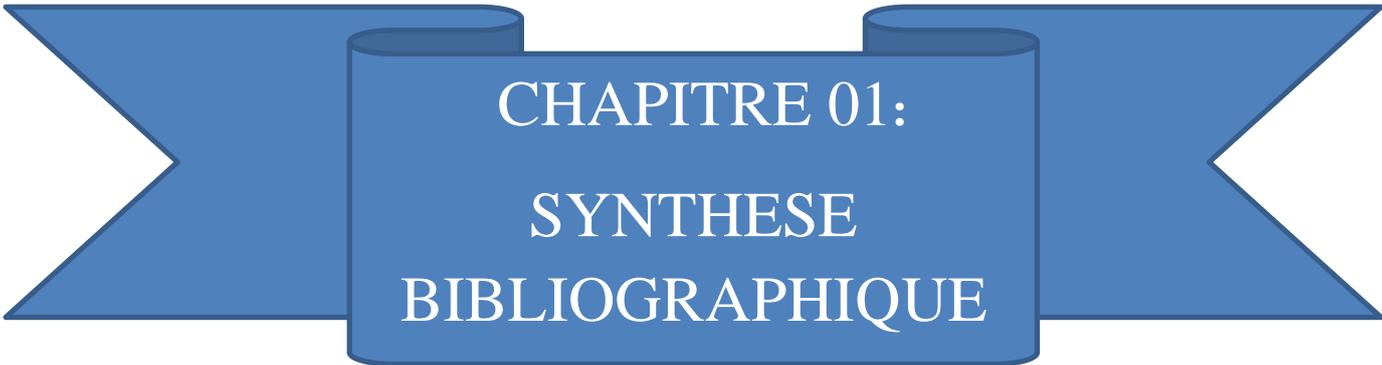
En outre, l'activité antimicrobienne de cette huile est difficile à relier à un composé spécifique en raison de leur complexité et de leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs (**Wendakoon CN, Sakaguchi M (1995)**) ont signalé qu'il existe une relation entre la composition chimique en éléments les plus abondants et l'activité antimicrobienne.

Les composés antioxydants naturels font actuellement l'objet de nombreuses études, à cause de leur rôle dans la piégeage des radicaux libres, conservation des denrées en industrie

alimentaire et ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie ou le traitement de nombreuses pathologies.

Nous avons choisi d'étudier l'activité biologique de l'huile essentielle et polyphénole de la sauge prévenu de la région centre (Alger) pour compléter les travaux antérieurs sur l'étude de l'activité acaricide contre la varroase, l'activité antimicrobienne pour certain souche, l'activité antioxydant qui peut piéger les radicaux libres et étudier quelque caractéristique physique et chimique.

Pour cela, le travail a été scindé à deux parties : l'un sur la recherche bibliographique pour s'informer des résultats réaliser sur la sauge et la deuxième partie consiste à évaluer l'activité acaricide, l'activité antimicrobienne par l'huile essentielle, l'activité antioxydant par extrait polyphénolique et la déterminer certain caractéristique physique et chimique de l'huile essentielle.



CHAPITRE 01:  
SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE



PARTIE 01 :  
PRESENTATION DE  
PLANTE ETUDIEE

## CHAPITRE 01: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### PARTIE 01: Généralités sur *Salvia officinalis* L.

#### 1.1. Historique

Le terme « Sauge » apparu au XIII<sup>e</sup> siècle, vient du latin *Salvia*, dérive du verbe *salvere*, signifiant guérir (VANIER et TRUDEAU, 2006). Cette plantes salvatrice de moyen âge, reconnue par les chinois, la sauge entra obligatoirement dans la composition des préparations spécifiques, actrice en pharmacopée : eau d'arquebuse, eau céleste, eau impériale (RODZKO, 2000).

Les romains et les arabes l'employaient les feuilles de sauge généralement comme compresse contre les morsures de serpent. Au XVI<sup>e</sup> siècle, le botaniste Jacob Tabernaë-Montanus raconte que les femmes égyptiennes boire du jus de la sauge pour accroître leurs fertilité (SALLE, 1991 ; RODZKO, 2000).

Au XVIII<sup>e</sup> siècle, les cigarettes des feuilles de la sauge se mettaient à fumer quand l'apparition du premier pollen printanier pour les asthmatiques. La plante était associée avec l'immortalité de la longévité. Certains groupes d'Amérindiens mélangeaient la sauge avec de la graisse d'ours pour guérir les problèmes de peau. La plante est aussi utilisée pour traiter les tumeurs (VANIER et TRUDEAU, 2006).

#### 1.2. Biologie de la sauge

##### 1.2.1. Classification familiale de la sauge

La sauge officinales appartient à la famille botanique des lamiacées ou bien la famille des labiacées (BIANCHINI et al.,1975).

La famille des lamiaceae existe depuis l'oligocène, elle appartient à l'ordre de lamiale qui regroupe 20 famille exceptionnellement homogène, elle renferme 200 genre et plus de 3000 espèces qui caractérisent les climats méditerranéen (EMBERGER et al., 1960) .

GORENFLOT (1998) signale que les espèces de la famille labiacées poussent en montagne, en plaine et même dans les régions sahariennes et elles sont faciles à reconnaître.

Le genre *Salvia* (sauge) est très vaste, comportant au moins six cent espèces, surtout herbacées réparties dans les régions chaudes et tempérées des deux hémisphère (BOSSAR et

*al.*, 1989 ). Toutes les espèces de sauge ont sur leurs feuilles, des poils sécréteurs d'huiles essentielles, qui sont constituées de toute une gamme de substances dans laquelle se trouve un certain nombre de composées chimiques variant selon l'espèce et qui peuvent présenter un intérêt pour l'industrie.

On a plusieurs espèces de la sauge utilisé : sauge officinalis (*salvia officinalis*), sauge espagnol (*salvia Iwanduhfolia*) sauge sclarée (*salvia sclarea*) sauge trilobée (*sauge triloba*), la sauge rouge (*salvia milirrhiza*) (ISERIN ,2001).

Ce sont des plantes odorantes et herbacées à tige quadrangulaire pouvant devenir des arbrisseaux, leurs feuilles opposées par 2, leurs fleurs bisexuées, inégales, a calice cylindriques ou en cloche persistant, a corolle à tube très développé et leur fruit sec se séparent en 4 articles contenant chacun 1 graine (MOUTERDE, 1983).

### 1.2.2. Systématiques de *Salvia officinalis*

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Embranchement :</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement :</b>	Angiospermes
<b>Classe :</b>	Dicotylédones
<b>Sous Classe :</b>	Gamopétales
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiaceae
<b>Genre :</b>	Salvia
<b>Espèce :</b>	<i>Salvia officinalis</i> (MYOSE ,1971).



**Figure 1:** Aspect de *Salvia officinalis* L (original 2017)

### 1.3. Description botanique

#### 1.3.1. Le tige

La sauge officinale est un arbrisseau aromatique, très ramifié atteignant 80 cm de hauteur dans son habitat naturelle, de porte étalé a dressé, devenant ligneux a la base. Les tiges blanchâtres sont couverte de poiles. Elle émiaient de nombreux rameux dressé, quadrangulaire et laineux. Ils présentent nœuds saillants sur les quelles sont insérés les feuilles (RODZKO, 2000, QUEZEL et al, 1963 ., LANSASTER 1998).

#### 1.3.2. Les feuilles

Les feuilles de la sauge est grés- verdâtres peut atteindre de 3 à 8 cm de large, elles sont allongées, oblongues-ovales, elliptiques. Le bord est finement crénelé a lisse, l'extrémité arrondie ou subaiguë. La face supérieure est grés-vert et granuleuse, la face inférieure est blanche, pubescente et présente un réseau dense de petites nervures proéminentes en relief (WICHTL et ANTON, 2003 ; RODZKO, 2000).

### 1.3.3. Les fleurs

Les fleurs de la sauge sont odorantes, mellifères, regroupées par 4 à 12 en une inflorescence située à l'extrémité des rameaux et constituent une cyme unipare, elles sont zygomorphes, faiblement pédicellées (BOSSAR et CORBOETTA, 1975)

D'après WICHTL et ANTON(2003). Le calice est ovale de 10 à 14 mm de long, pubescent et persistant. Il comprend cinq sépales soudés a la base puis divisés en deux lèvres, la corolle est de 2 à 3.5 cm de long, elle est tubuleuse, occupée à la base d'un anneau de poils, et la lèvre supérieure est presque droite, les pétales sont de couleur violet claire, parfois rose ou plus ou moins blanchâtre, selon les même auteurs la floraison de la sauge s'étend entre mai et juillet.

### 1.3.4. Les fruits

Le fruit de la sauge est tétra-akène lisse, il est de couleur brun foncé ou noir, chaque akène est de forme globuleuse, il a un diamètre de 3 mm et renferme une seul graine albuminée (JUDD et al, 2002).

### 1.3.5. Les racine

La racine de la sauge est brunâtre et fibreuse. Son odeur est fortement balsamique, de saveur aromatique chaude, amère et astringente (RODZKO, 2000).

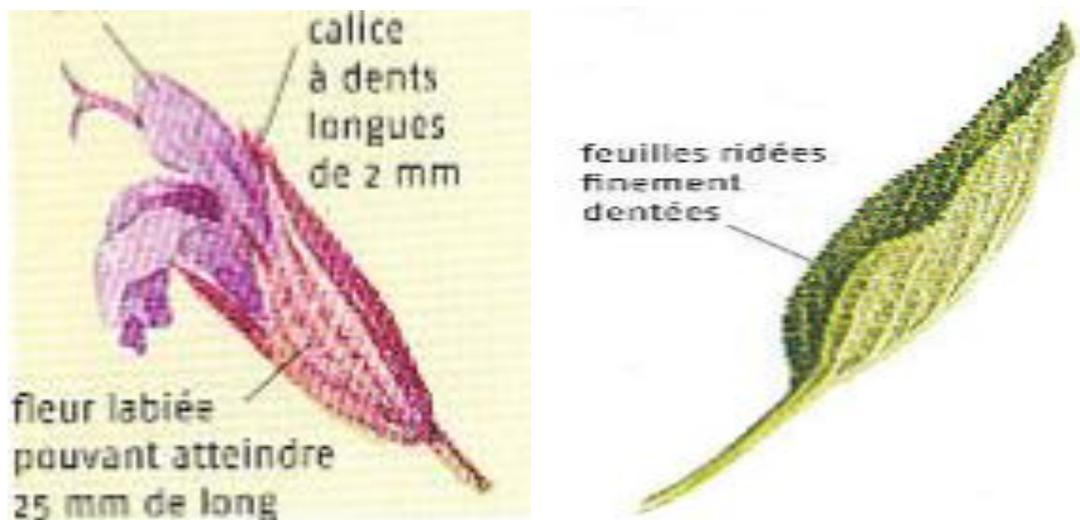


Figure 2: la fleur et la feuille de *Salvia officinalis* (WOLFGANG, 2008).

### 1.4. L'origine de la sauge

C'est une très bonne plante répandue au Sud de l'Europe et l'Afrique de Nord, c'est-à-dire dans le bassin méditerranéen, elle est spontanée dans les lieux arides (**THURZOVA, 1981**).

### 1.5. L'habitat de la sauge

Selon **MESSEGUE (1983)**, elle est très abondante en Grèce, Yougoslavie nomment en Italie, Espagne, et en France. Elle est communément cultivée comme plante aromatique, se trouve sur les pelouses, les berges, les landes, et les garrigues.

D'après **PRESS (1984)**, le climat méditerranéen s'étend sur une frange plus ou moins large dans les régions entourant la mer Méditerranéen. Il caractérisé par un été sec et chaud avec un ensoleillement importante, un hiver doux et un automne pluvieux ou la précipitation sont généralement irrégulières.

La sauge officinale pousse sur les terrains les plus pauvres, même s'ils sont pierreux, car elle est peu exigeante.

Elle aime les terres chaudes, légères, rocailleuses, des régions ensoleillées, malgré ses poils laineux, elle capture l'humidité (**RODZKO, 2000**). On la cultive dans n'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire, elle se développe aussi loin de son climat naturel (**BIANCHINI et al ,1975 ; AMELLAL et ACHOURI ,1999**).

### 1.6. Les exigences de la sauge

La sauge doit être cultivée dans des situations chaudes et ensoleillées jusqu'à une altitude d'environ 1200 m (**REY et al, 2003 in CARLEN et al ,2006**).

La sauge est une espèce assez forestier, elle pousse dans tous type de terre, c'est une plante très facile à cultiver. Elle évolue mieux sur les terrains secs ayant un bon rapport calcaire et protégés du vent, elle demande beaucoup de lumière, il faudra la placer en pleins soleil (**ISERIN ,2001**).

La sauge n'aime pas les sols humides et lourds, donc elle n'a pas besoin d'être beaucoup arrosé, deux fois par semaine en été et une fois par semaine en hiver, elle est moyennement sensible au gel (**RODZKO, 2000 ; ISERIN, 2001**).

### 1.7. La Culture de la sauge

Le semis se pratique au printemps, à l'intérieur en terrine. Le repiquage se réalise deux mois plus tard, puis la plantation définitive a lieu à l'automne (**RODZKO, 2000**).

On peut également multiplier cette plante par division des souches et par le bouturage qu'est la méthode la plus commune.

### 1.8. La récolte de la sauge

La récolte des feuilles se fait au printemps à l'automne, aussi fréquemment qu'on le désire, toujours par temps sec pour effectuer un séchage à l'ombre rapide. La plante ouvrira à compter seconde année, il faut renouveler la plantation tous les quatre ou cinq ans (**VANIER et P., TRUDEAU C., 2006 ; RODZKO, 2000**).

### 1.9. La structure sécrétrice d'huile essentielle de *Salvia officinalis*

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles s'effectuent dans structures histologique spéciales, différenciées et variables suivant la famille. Chez la famille des Lamiacées, ce sont les trichomes glandulaires qui forment les structures de sécrétion et de concentration de l'huile essentielle (**VENKATACHALAM et al, 1984**).

D'après la même source, deux principaux types de trichomes glandulaires sont présents sur les surfaces dorsales et face abdominal des feuilles de *Salvia officinalis* L. avec des densités plus élevées sur la surface axiale.

- Les glandes flagellent
- Les glandes ciliées

### 1.10. La chémotype de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

La composition chimique des huiles essentielles de *S. officinalis*, provenant de différents pays a été étudiée et publiée dans des monographies (**LAWRENCE, 1981 ; TOUKER et MACIARELLO, 1990**). Relatifs à la composition de l'huile essentielle de *S. officinalis*, différentes types chimiques ou chémotypes ont été définis en fonction de la teneur de ses constituants majoritaires (**MOCKUTE et al, 2003**).

**1.10.1. Les molécules bioactives d'huile essentielle de *Salvia officinalis***

**Tableau 1 :** Les molécules bioactives plus important d'huile essentielle de *Salvia officinalis*

N <sup>o</sup>	molécules	Norme <b>ISO 9909</b>
01	$\alpha$ -thuyone	18.0-43.0
02	$\beta$ -thuyone	3.0-8.5
03	Camphre	4.5-24.5
04	1.8-Cinéol	5.5-13.0
05	$\alpha$ -thuyéne	1.0-6.5
06	Camphéne	1.5-7.0
07	Limonéne	0.5-3.0
08	Acétate de bornyl	< 2.5

**1.10.2. Propriétés physico-chimique d'huile essentielle de *Salvia officinalis***

Les différentes caractéristiques physique-chimique des huiles essentielles de la *S. officinalis* a été réglementée par norme **ISO 19909**,

**Tableau 2 :** Caractéristiques physique-chimique des huiles essentielles de la *S. officinalis*

Caractéristique physico-chimique	Algérie	Norme ISO 19909
Densité	0.926	0.910–0.930
Indice de réfraction	1.4676	1.480–1.470
Pouvoir rotatoire	+3°	+2°–+30°
Indice d'ester	7.97	–
Indice d'acide	4.6	–
Indice de carbonyle	157.08	103–288
Miscibilité a l'éthanol à 70%	8	8.5
Miscibilité a l'éthanol à 80%	1.2	2

(AMELLAL et ACHOURI, 1999)

### 3.10.3. Bio activité de quelques composés des huiles essentielles de *Salvia officinalis*

Les molécules bioactives des huiles essentielles de *S. officinalis* possède des chacun des propriétés bioactives déférentes.

**Tableau 3:** Activité biologique de quelques composés des huiles essentielles de *S. officinalis*

Composés	Bio activités	Références
Acétate de bornyl	Antibactérien, antispasmodique, antiviral, expectorant	<b>TEIXEIRA DA SILVA</b>
Camphre	Analgésique, anesthésique, antioxydant, antiseptique antidiabétique, anti-dysentérique, antispasmodique	<b>TEIXEIRA DA SILVA</b>
$\alpha$ - thujone	Antibactérienne, insecticide, larvicide, pesticide	<b>TEIXEIRA DA SILVA</b>
1,8- cineole	Antimicrobien	<b>SVOBODA et HAMPSON</b>

## 1.11. Utilisation de l'huile essentielle de la sauge

### 1.11.1. Domaine phytothérapie

A côté d'une utilisation artisanale en a aussi alimentation familiale et médecine populaire, (FELLAH et *al.*, 2006 ; THURZOVA, 1981).

### 1.11.2. Domaine pharmaceutique

Cette plante et surtout ses huiles essentielles sont utilisées par les industrie pharmaceutique (FELLAH et *al.*, 2006 ; THURZOVA, 1981).

### 1.11.3. Domaine Agroalimentaire

D'après THURZOVA (1981), *S. officinalis* est riche en polyphénols et l'huile essentielle qui donne son gout épicé et son odeur aromatique, des propriétés cholérétique.

### 1.11.4. Domaine médicinale

Elle a également, possède une action relaxante et antispasmodique sur les muscles de l'estomac et des intestins.

### 1.11.5. Domaine biologique

La sauge est une source de fer pour l'homme. La sauge est une excellente source de vitamine K (Cette vitamine nécessaire, entre autres, à la coagulation du sang).

### **1.11.6. Domaine cosmétique**

Son essence est un excellent fixateur de parfum, mais elle est habituellement distillée à partir de la sauge sclarée.



PARTIE 03 :  
PRESENTATION DE  
L'ABEILLE ET SON  
PARASITE LE VARROA

## PARTIE 02: PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

### 2.1. Généralité sur l'abeille

#### 2.1.1. Généralité

L'abeille d'Algérie est celle qui se trouve à travers toute l'Afrique du nord, de la tripolitaine aux confins les plus méridionaux du Maroc riverains de l'Atlantique, l'abeille noire *Apis mellifera intermissa* qui a une position maîtresse sans concurrence de l'apiculture. (Hussein 2001)

#### 2.1.2 Systematique

Règne :	Animal
Sous/règne :	Métazoaires
Embranchement :	Arthropodes
Classe :	Insectes
Ordre :	Hyménoptères
Sous/Ordre :	Aculéates
Famille :	Apidé
Sous /Famille :	Apinea
Genre :	Apis
Espèce :	<i>Apis mellifera</i>
Sous espèce :	<i>Apis mellifera intermissa</i> (Adam., 1964).

#### 2.1.3. Les races d'abeilles

##### 2.1.3.1. Dans le monde

Les plus connues, on peut citer :

- L'abeille noire, *Apis mellifica mellifica*, qui peuple l'Europe occidental.
- L'abeille italienne, *Apis mellifica ligustica*.
- L'abeille carniolienne, *Apis mellifica carnicae*, qui peuple le sud-est de l'Europe

## Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

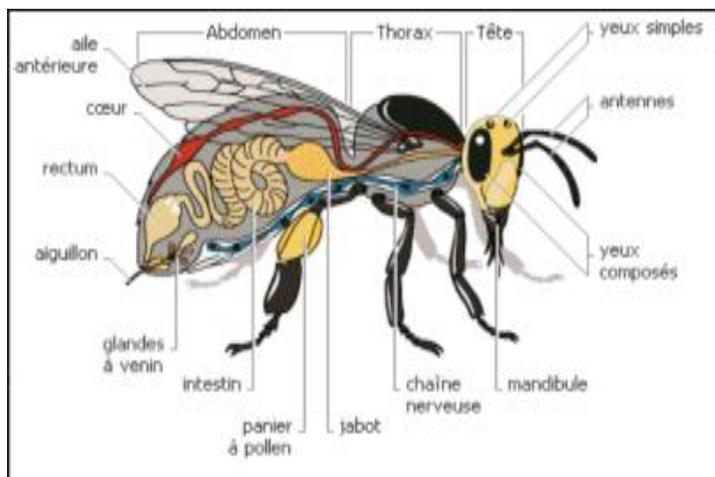
- L'abeille caucasienne, *Apis mellifica caucasica*, originaire du Caucase. (A. Regard., 1981 et Louveaux.J., 1985).

### 2.1.3.2. En Algérie

Il existe deux races d'abeilles en Algérie :

- *Apis mellifera intermissa* : ou l'abeille tellienne.
- *Apis mellifera sahariensis* : ou l'abeille saharienne. (Beldjoudi salah et Benaldjia Mohamed, 2006.)

### 2.1.4. Morphologie et Anatomie



**Figure 3:**  
Schéma d'une  
abeille

#### 2.1.4.1. Morphologie Externe

Le corps est divisé en trois parties : tête, thorax et l'abdomen. Il est recouvert d'une membrane externe de chitine, appelée cuticule, qui forme l'exosquelette, il est pourvu de poils et soies robustes, Proximité des articulations. (BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2004)

##### 2.1.4.1.1. La tête

La forme ovoïde, porte une paire d'yeux composés et trois ocelles (organe visuel), une paire d'antennes (organes olfactifs et tactiles) et les pièces buccales (appareil buccal de type broyeur-suceur formé de deux manipules et d'une trompe). Son axe forme un angle de 90° avec celui du reste du corps. Elle est reliée au thorax par un premier rétrécissement, le cou. (BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2004)

#### **2.1.4.1.2. Le thorax**

Le thorax est composé de trois segments thoraciques (segments I, II et III) et d'une extension du premier segment abdominal (segment I). Il porte les éléments locomoteurs : trois paires de pattes articulées et deux paires d'ailes membranes, un dispositif de stabilisation, formé d'une gouttière et de crochets permet aux deux paires d'ailes de fusionner pour n'en former qu'une seule, chez l'ouvrière, la troisième paires de pattes. **(BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2004)**

#### **2.1.4.1.3. L'abdomen**

L'abdomen comprend six segments (segments 2 à 7) composés d'une plaque supérieure, le tergite, ils reliés entre eux pas les mouvements d'extension et de repli de l'abdomen, chaque segment porte une paire de stigmates, chez l'ouvrière, les tergites du quatrième, cinquième, sixième, et septième segment portent les glandes cirières, l'antérieur de l'abdomen comprend une grand partie des appareils respiratoire digestif et reproducteur, ainsi que l'organe venimeux pour les femelles. Le dernier segment porte l'appareil vulnérant. **(BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2014)**

#### **2.1.4.2. Anatomie Interne**

##### **1.4.2.1. Le système circulatoire**

Chez les insectes, le système circulatoire est responsable de l'acheminement des hormones et des éléments nutritifs depuis l'intestin moyen vers l'ensemble des cellules du Corp. L'évacuation des déchets issus du métabolisme cellulaire. La participation à la défense de l'organisme. **(BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2004)**

##### **2.1.4.2.2. Le système respiratoire**

Le système respiratoire il assure les échanges gazeux par un réseau de sacs aériens et de trachées qui se ramifient en trachéales apportant directement l'oxygène au niveau cellulaire. **(BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2004)**

##### **2.1.4.2.3. Le système nerveux**

## **Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA**

---

Le système nerveux est constitué du système nerveux central et de système nerveux stomatogastrique. (BIRI, 2010 ; LE CONTE ,2004)

### **2.1.4.2.4. Le système digestif et excréteur**

Le système digestif prend naissance dans la bouche et se prolonge par l'hypo pharynx puis le pharynx, ce dernier agissent comme une pompe d'aspiration. (BIRI, 2010 ; LE CONTE, 2014)

### **2.1.5. Les Habitants de la ruche**

Une abeille domestique isolée ne peut survivre : la plus petite unité viable est la colonie sociale car elles sont caractérisées par trois principes fondamentaux. (Von FRISCH, 2011)

#### **2.1.5.1. La Reine**

Ses principales fonctions sont la ponte des œufs et la régulation des activités de la colonie par sécrétion de phéromones produits par les glandes mandibulaires (stimulation de la production de cire ; inhibition de la concentration d'alvéoles royales, inhibition de développement ovarien des ouvrières). Elle est facilement reconnaissable par son abdomen et son thorax plus développés que ceux des ouvrières (Le conte, 2014).

#### **2.1.5.2. Les ouvrières**

Elles sont plusieurs dizaines de milliers dans la colonie, plus petite que la reine, une ouvrière mesure 10 à 12 mm de long pour 4mm de de diamètre (BIRI, 2010), elle pèse entre 81 et 151 mg (Wendling 2012).

#### **2.1.5.3.Les faux bourdons**

Individus male, leur seule fonction est la fécondation d'une reine, ce qui aboutit à leur mort. Ils se caractérisent par un corps massif (diamètre thorax de 5,5 mm) et peuvent atteindre 12 à 14 mm de long, ils pèsent entre 196 et 225 mg (Wendling, 2012).

### **2.1.6. Les produits de la ruche**

#### **2.1.6.1. Le miel**

La définition du miel, établie pour le commerce international est la suivante : " substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera*" (Directive 2001/ 110/

## Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

CE du 20/12/2001). L'élaboration du miel peut s'effectuer à partir de deux sources, récoltées par les butineuses .la première est le nectar floral,. La deuxième source est le miellat qui correspond aux extractions laissées sur les végétaux par d'autres insectes.

### 2.1.6.2. Le pollen

Prélevé sur les fleurs et stocké en périphérie du nid, le pollen subit une lactofermentation qui améliore sa digestibilité et sa conservation. (BRUNEAU, 2004).

### 2.1.6.3. La gelée royale

La gelée royale est la substance la plus élaborée de la ruche. Elle est donnée pour l'alimentation des larves pendant les trois premiers jours, puis uniquement aux futures reines. (BRUNEAU, 2004).

### 2.1.6.4. La propolis

La propolis est un mélange essentiellement composé de résines. (BRUNEAU, 2004).

### 2.1.6.5. La cire

Synthétisée par les glandes cirières à partir de nectar ou de miel. (BRUNEAU, 2004).

### 2.1.6.6. Le venin

Seuls les individus femelles sont pourvus d'un appareil vulnérant et synthétisent donc du venin. (BRUNEAU, 2004).

### 2.1.7. Stades de développement

Le tableau suivant représente le temps nécessaire au développement des différentes castes.

**Tableau 4:** Le temps nécessaire au développement des différentes castes de la ruche. (G.Ravazzi, 2007).

Individus \ Stades	Reine	Ouvrière	Male
Œuf	3 jours	3 jours	3 jours
Larve non operculée	5 jours ½	6 jours	6 jours 1/2
Operculation	9 <sup>ème</sup> jour	9 <sup>ème</sup> jour	9 <sup>ème</sup> jour

## Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

Larve operculée et nymphe	7 jours ½	12 jours	14 jours 1/2
Naissance	16 <sup>ème</sup> jour	21 <sup>ème</sup> jour	24 <sup>ème</sup> jour

### 2.1.8. Situation actuelle de l'apiculture en Algérie

En Algérie, l'apiculture est un élevage ancestral. Elle a toujours revêtu une importance sur le plan socio-économique, compte tenu des conditions climatiques et de la flore importante favorable à son développement. Malgré ces conditions favorables, la production algérienne en miel reste inférieure aux besoins de la consommation locale, alors qu'elle devrait être à l'origine d'un courant d'exportation important. (Berkani., 2007).

#### 2.1.8.1 Relation entre l'abeille et la flore

La communication chimique chez l'abeille repose essentiellement sur les signaux phéromonaux. Ces derniers, sont des substances exocrines (Winston., 1993).

#### 2.1.8.2 Pollinisation

À la fin du XV<sup>ème</sup> siècle, un professeur de philosophie allemand démontra expérimentalement le rôle du pollen dans la formation des graines que les insectes transportaient du pollen d'une fleur à une autre, participant ainsi efficacement à la réalisation de la fécondation (Lasram., 1975). Parmi les insectes pollinisateurs, l'abeille tient une place de premier (Bozzini., 1979).

#### 2.1.8.3 Importance de l'abeille en agriculture

La pollinisation des abeilles produit des baies et de graines et aussi améliorer la qualité des fruits. Peut aussi servir à protéger les cultures contre les ravageurs. L'amélioration du poids d'un fruit grâce à une pollinisation suffisante (Clement., 2006).

#### 2.1.8.4 Cause de mortalité des colonies d'abeilles

On peut distinguer deux facteurs :

##### ✚ Facteurs abiotique

- les agents chimiques (pesticides).
- l'environnement (aléas climatiques).
- les pratiques apicoles.

##### ✚ Facteurs biotiques

## Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

Le tableau synthétiques suivant résumant les principaux agents biologiques provoqué des maladies chez les 'abeilles par les prédateurs, parasites, champignons, virus et bactéries. (AFSSAP., 2008) :

**Tableau N°5 : les maladies des 'abeilles**

	Agent pathogène	Maladie ou nom commun	Nature de l'agent	Type de population atteinte		Signes cliniques	Importance de la maladie
				Abeille adulte	couvain		
Prédateurs	Vespa velutina	Frelon asiatique (guêpe)	Insecte hyménoptère	Oui	non	Vol stationnaire de frelons devant la colonie : prédation direct	Affaiblissement des colonies par diminution de nombre des ouvrières
	Galler Iamellonella	Fausse teigne	Insecte lépidoptère	Non	oui	Altération des ruches et les cadres, galeries dans les rayons, rayons tapissée d'une toile blanche	Pertes des colonies déjà affaiblies avant l'infestation par ce prédateur, possible d'agent pathogène (notamment : loque américaine)
Parasite	Varroa jacobsoni	Varroase	Acarien mésostigmate	Oui	Oui	Abeille traînante, abeille aux ailes atrophiée, mortalité hivernales petit paquet d'abeilles restant dans la ruche avec des quantités importantes de miel et pollen	Taux levé de mortalité hivernale, transmission d'autre agent pathogène
	Acarapi Woodi	Acariose	Acarien trombidiforme	Oui	Non	Abeille paralysée ou /et incapable de voler (abeilles traînantes ou agrippées aux	Raccourcissement de la durée de vie des abeilles, augmentation de la mortalité au printemps et mortalité hivernale élevé, diminution de la

## Chapitre 01: PARTIE 02 : PRESENTATION DE L'ABEILLE ET SON PARASITE LE VARROA

						brins d'herbe	production de couvain et de miel
Champignons	Noséma apis	Nosérose	microsporidie	Oui	non	Difficultés de vol, abdomen gonflé, diminution ou arrêt de la ponte, production de miel réduite	Dépeuplement et diminution de la force de la colonie, diminution de la longévité des abeilles.
	Ascospaera apis	Ascosphérose (couvain plâtré)	Champignons ascomycète	Non	oui	Larves d'abeille mortes, recouvert d'un mycélium blanc, momies déposées au trou de vol et devant la ruche	Affaiblissement de la colonie
Bactéries	Paenibacius larvae	Loque américaine	Bactérie sporulée	Non	oui	Atteint le couvain operculé, larve mortes de couleur brunâtre, écailles loqueuse adhérentes à la paroi de l'alvéole	Mortalité du couvain, affaiblissent et mortalité des colonies
	Bacillus apisepiticus	septicémie	-	Oui	non	Difficulté de vol	affaiblissent et mortalité des colonies
Virus	(ABPV, Actue Bee Paralysis Virus)	Virus de paralysie aiguë	-	-	-	Symptômes de paralysie précoce (2 à 4 jour),	Mortalité rapide (3 à 5 jour)
	DWV, Deformed Wing Virus)	Virus des ailes déformées	-	-	-	Déformation des ailes et du corps d'abeille naissantes	Participerait aux affaiblissements, associés à Varroa en entraînant la mortalité des ouvrières et des déformations d'abeilles naissantes

## **2.2. Présentation du parasite le Varroas**

### **2.2.1. Historique**

Le varroa a été découvert pour la première fois en Indonésie en 1904 sur *Apis cerana* (son hôte originel), le passage du varroa sur *Apis mellifera* se fait à l'aide des échanges commerciaux et l'entrée de cette race dans le sud-est asiatique. Il a été constaté pour la première fois en 1959 sur *Apis mellifera*. (Pierre J., 2005).



**Figure 4** : Femelle de varroa sur l'abeille du stade larvaire (à gauche) et stade nymphale (à droite). (COLIN., 1982).

### **2.2.2. Systématique**

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

Selon Sébastien et al, (2012).

### **2.2.3. Distribution de la maladie**

#### **2.2.3.1. Dans le monde**

A partir du sud-est asiatique le varroa diffuse dans toutes les directions. Des enquêtes ont prouvé le passage du varroa de l'Union Soviétique vers les pays de l'Europe de l'Est et fini par gagner toute l'Europe et arrive jusqu'à les rivages méditerranéens. **(Robaux., 1986)**. Le varroa est signalé dans l'Afrique du Nord en 1975 **(Bougura et al, 1995)**. Dans l'Amérique, il a été détecté au Paraguay en 1971 et au Brésil en 1976 (Leconte., 1991), en Etats-Unis en 1987 **(Sanford., 2001)**. Actuellement, peu de territoires échappent à l'invasion, l'Australie est encore indemne **(Sébastien et al, 2012)**.

#### **2.2.3.2. En Algérie**

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

### **2.2.4. Morphologie du varroa**

#### **2.2.4.1. Femelle varroa**

La femelle de *Varroa jacobsoni* est un acarien à une forme ellipsoïdale et de couleur brun rougeâtre, environ 1.6 mm de largeur sur 1.1mm de longueur. Elle possède quatre paires de pattes terminées par 2 griffes et un ventouse en font un acarien très mobile (2mm /sec). De forme très aplatie elle se glisse entre les sternites abdominales de l'abeille (sang d'abeille) dont elle se nourrit. **(karl pfefferl, 1984)**.



**Figure 5 : *Varroa jacobsoni* (adulte femelle). (R. Vandame., 1996). Gr : 10**

#### **2.2.4.2. Mâle varroa**

Le mâle varroa a une forme arrondie de moins d'un millimètre de coloration grise ou jaune. Le mâle n'est pas adapté au parasitisme. **(Baker, 1984).**



**Figure 6:** *Varroa jacobsoni* (adulte mâle). **(R. Vandame., 1996) Gr : 10**

#### **2.2.4.3. Les œufs**

Les œufs de *Varroa jacobsoni* sont blanchâtre, entourés d'une enveloppe contenant le vitellus. Ils mesurent 0.5mm. La larve enfermée dans la membrane de l'œuf.

#### **2.2.4.4. Les protonymphes**

Les protonymphes issues des larves sont mobiles, mesurent 0.7mm et sont de couleur blanchâtre. Il est très difficile de distinguer mâles et femelles à ce stade.

#### **2.2.4.5. Les deutonymphes**

Les deutonymphes femelle ont à peu près la forme et la taille de l'adulte mais sont de coloration blanche. **(Colin., 1982).**

#### **2.2.5. Cycle évolutif du varroa vis-à-vis de celui de l'abeille**

Seules les femelles fondatrices sont retrouvées sur les abeilles adultes. Celles-ci entrent dans une cellule du couvain, quelques heures avant son operculation, la femelle pond un premier œuf, non fécondé (donc haploïde) qui donnera un mâle. Les œufs suivants, pondus environ toutes les trente minutes, donneront des femelles. La durée du stade œuf est de 20 à 28 heures pour les femelles, 26 à 30 heures pour les œufs mâles, Le nombre d'œufs pondus est de cinq (1 mâle et 4 femelles). **(Lucien et al, 2012).** Et leurs développements prendre 130 heures pour les femelles et 150 heures pour les mâles, il y'a cependant une mortalité important durant ce développement, en moyenne de 1,45 femelles atteindront l'âge adulte dans une cellule ouvrière, contre 2,2 femelle dans une cellule de faux bourdon. **(Simone 1990)**

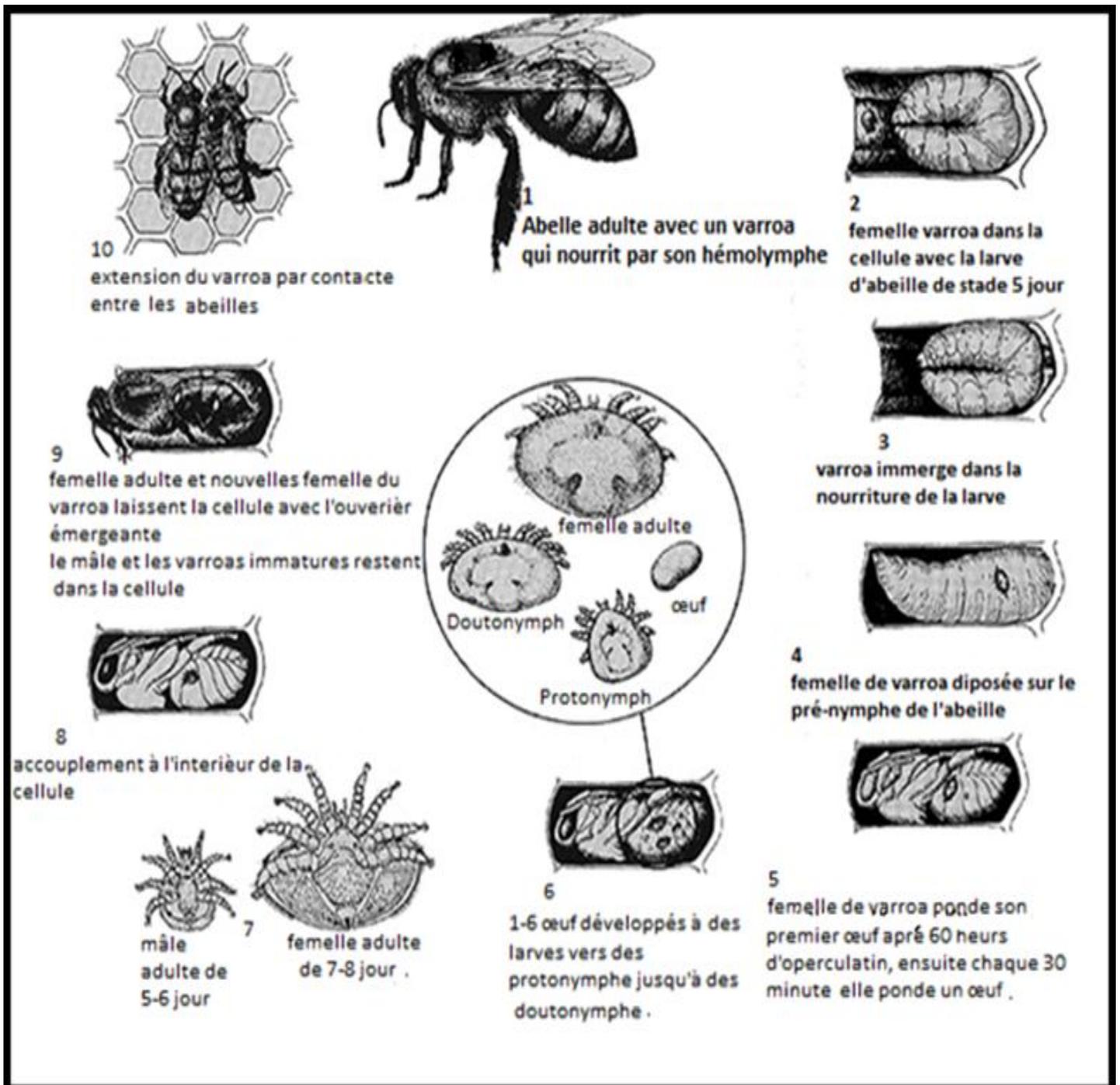


Figure7 : Le cycle évolutif du *Varroa jacobsoni*. (Martin, 2001).

### 2.2.6. Effets et conséquences du varroa dans les colonies d'abeilles

La multiplication du varroa se fait dans le couvain operculé. Le parasite vit sur l'abeille adulte environ 5 jours afin d'arriver sa maturité sexuelle. Le varroa exerce 3 types d'effet, (Duval et al, 1995), alors on distingue :

#### **2.2.6.1. Un effet mécanique**

La présence d'un ou plusieurs parasites sur l'abeille adulte altère son comportement au détriment de ses tâches habituelles. Le varroa perturbe le développement du couvain et peut léser les plaques imaginales à l'origine des appendices de la future abeille, notamment des ailes. (Odile, 2009).

#### **2.2.6.2. Un effet spoliateur**

*Varroa jacobsoni* prélève 0,1 % à 0,2 % du volume d'hémolymphe d'une ouvrière adulte. Et pendant la vie nymphale la variation des pertes en fonction de l'importance du parasitisme évolue entre 15 et 40 % (par rapport au volume hémolymphe d'une nymphe saine). (Colin., 1989).

#### **2.2.6.3. Un effet vecteur**

Le varroa suce l'hémolymphe de l'abeille et lui transmet, par le fait même, plusieurs maladies, tels le virus des ailes déformées (DWV), le champignon causant le couvain plâtré (*Ascorphaera Apis*), le virus de la paralysie aiguë des abeilles et le virus israélien de la paralysie aiguë (IAPV). (Vidal-Naquet, 2009).

#### **2.2.7. Les symptômes**

Cette maladie provoque énormément des dégâts telle que :

- Réduction de la durée de vie de la reine conduit parfois un arrêt de ponte, de la taille et malformation des imagos, du potentiel sexuel des mâles, de la capacité de vol.
- Modification éthologique (perte de sens et de direction).
- Vectorisation d'agents infectieux.
- Activation virale.
- Problème de stockage de pollen (apparition de la mosaïque).

- Perte de population.

### **2.2.8. Modalités d'infestation :**

La source de contamination est représentée soit par les abeilles adultes, quelle que soit leur caste, soit par le couvain. Le rôle des colonies sauvages est important. La survie des femelles de *Varroa jacobsoni* hors de leur hôte ne peut excéder dix jours.

### **2.2.9. La lutte contre varroa :**

Dans les méthodes de lutte, il y'a des acaricides, des insecticide ou d'autre produits plus sophistiqués Amétraz, Apistan, et d'autre produit plus écologiques sont réalisés à base des plantes sauvages. (Jasse., 1994).

#### **2.2.9.1 Lutte physique**

Cette méthode consiste à chauffer les colonies de 40 °C– 48 °C pendant plusieurs min a plusieurs H pour tuer les parasites qui ne résistent pas à de telles températures. (Houle., 2004 et Robaux., 1986).

#### **2.2.9.2 Lutte chimique**

La lutte chimique reste actuellement la principale base des traitements malgré les nombreux inconvénients. (Kralj et al, 2006).

##### **a. Molécules de synthèse**

Le traitement doit être fait systématiquement afin de maintenir l'infection en dessous d'un seuil de dommages acceptable.

Les principaux produits acaricides sont:

- ✓ L'Apistan (principe actif : Tau-fluvalinate)
- ✓ l'Apivar (principe actif : Amitraze)
- ✓ l'Apiguard (principe actif : Thymol)
- ✓ le Thymovar (principe actif : Thymol)

- ✓ l'Apilife-Var (principes actifs : Thymol (76%), Eucalyptol (16,4%), Camphre (3,8%), Menthol (3,8%).

### **b. Acides organiques**

- Acide oxalique: est un acide organique d'origine végétale que l'on retrouve naturellement dans quelques aliments végétaux (oseille, betterave) y compris certains miels (forêt, châtaignier).

#### **2.2.9.3. Lutttes biotechniques**

##### **- Piégeage des varroas dans le couvain de mâles**

Piéger les varroas dans du couvain consiste à introduire des cadres de mâles dans les colonies infestées, puis à les retirer une fois ceux-ci pondus et operculés pour les détruire. (Pierre J., 2005).

##### **- Le cadre piège**

La reine est obligée à pondre sur un seul rayon où se concentrent pratiquement tous les Varroas en âge de se reproduire puis on élimine ce cadre. (G. Ravazzi., 2007).

#### **2.2.9.4. Aromathérapie**

L'aromathérapie est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes. Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odorifères. Par exemple les huiles essentielles

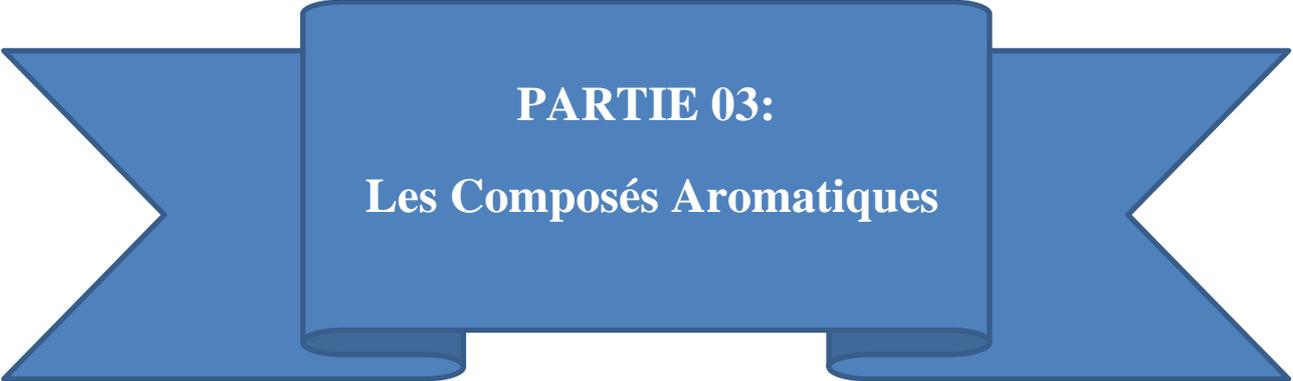
#### **2.2.10. Moment d'intervention**

La plupart des traitements qui impliquent des solutions à appliquer doivent être en dehors de la miellée puisqu'ils pourraient poser préjudice à la qualité du miel. On doit donc traiter :

- Au début de l'été pour s'assurer que la population de varroa soit minimale avant une longue période sans traitement.
- Après la récolte pour renforcer la colonie avant l'hiver.
- Si la population de varroa dépasse le seuil de tolérance.

### **2.2.11. Impact économique**

Dans les pays exportateur de miel et il se peut que cette maladie ait un impact négatif sur le commerce du miel, si le ministère de l'Élevage ne fait rien car, selon les experts, cette maladie se répand rapidement infraction de traitement dans les plus brefs délais. **(Racl.R., 2012).**



**PARTIE 03:**

**Les Composés Aromatiques**

### PARTIE 03 : LES COMPOSES AROMATIQUES

#### 3.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles aussi appelées : essences de plantes, essences aromatiques, essences végétales (Salle., 1991) sont des substances volatiles et aromatiques contenues dans des végétaux. (Degryse et al, 2008).

##### 3.1.1. Localisation et fonction des huiles essentielles

###### 3.1.1.1. Répartition botanique

Tous les organes des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle.

les fleurs : oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées

les feuilles : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge

les organes souterrains : racines, rhizomes (gingembre)

les fruits : fenouil, anis, épicarpes des agrumes

les graines : noix de muscade

le bois et les écorces: cannelle, santal, bois de rose

###### 3.1.1.2. Localisation

Les essences dans la plante sont synthétisées et sécrétées par l'intermédiaire des cellules ou organes particulières. (Pibir, 2006).

###### 3.1.1.3. Fonction des huiles essentielles

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement.

#### 3.1.2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

##### A. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entraînement à la vapeur d'eau, trois variantes sont possibles.

###### A.1. Hydro distillation simple

C'est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles.

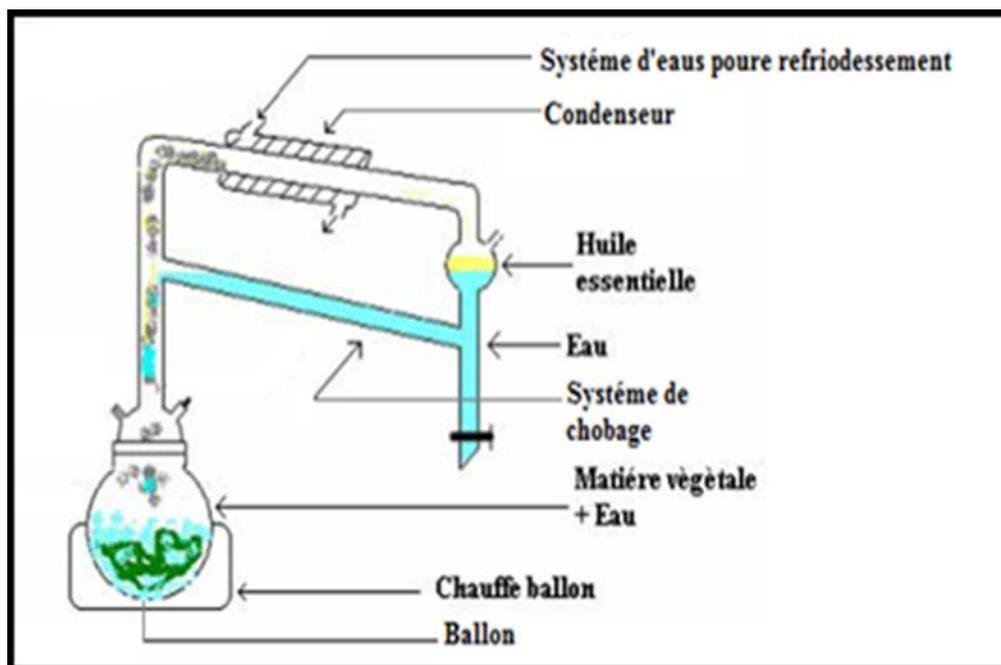


Figure 8 : Appareillage d'hydro distillation (clévenger)

### A.2. Entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche a été mis au point.

### A.3. Hydro diffusion

Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétal. (Padm, 2004)

### B. Extraction par expression

C'est une technique simple où le matériel végétal est pressé mécaniquement à froid pour extraire son huile essentielle (citrons, orange, mandarines et pamplemousses). (Semen, 2005)

### C. Autres procédés

D'autres procédés sont utilisés le plus souvent pour les plantes délicates qui ne supportent pas la chaleur :

### C.1.Enfleurage

Cette méthode consiste à mettre le matériel végétal en contact à la température ambiante avec un corps gras (saindoux) qui se sature en essence au bout de quelques jours.

### C.2.Extraction par solvants volatils

Cette méthode consiste à décomposer l'huile essentielle dans un solvant non miscible avec l'eau ou se trouve le matériel végétal et à séparer la phase organique contenant l'huile recherchée de la phase aqueuse. Le solvant est ensuite évaporé.

### C.3.Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé, il s'agit du CO<sub>2</sub> en phase supercritique n'est ni liquide ni gazeux et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction modulable à volonté en jouant sur la température et la pression. (Sousa *Et al*, 2002)

#### 3.1.3. Classification des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs,

Huile essentielle de sauge par les cétones : thuyone

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier dans une même plante: Selon les organes au cours du cycle de développement, la saison et les conditions de culture.

#### 3.1.4. Activités biologiques étudiées de huile essentielle

##### 3.1.4.1. Activités antiseptiques, antimicrobiennes et antiparasitaires

Selon SALLE, le pouvoir antiseptique des huiles essentielles s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris les souches habituellement antibiorésistantes. Leur mécanisme d'action n'est pas entièrement compris, mais on pense qu'elles provoquent la rupture de la membrane du micro-organisme. Le nérolidol de l'espèce *Viola surinamensis* possède une activité anti-malariale. L'alantolactone et son isomère ont des propriétés antibactériennes contre *Mycobactéries tuberculoses* et antifongiques contre des pathogènes opportunistes. (Pedneault *et al*.2001).

### 3.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent un des groupes les plus largement distribués dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, présents dans tous les organes de la plante. **(Lugasi et al.2003)**.

### 3.2.1. Définition

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. **(Beta et al, 2005)**

### 3.2.2. Classification des composés phénoliques

#### 3.2.2.1. Les acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, **(Bruneton, 1999)**.

#### 3.2.2.2. Les coumarines

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. **(Gonzalez et Estevez-Braun, 1997)**.

#### 3.2.2.3. Les quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. **(Kansole, 2009)**

#### 3.2.2.4. Les tanins

Les tanins sont des poly phénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation **(Hemingway, 1992)**.

#### 3.2.2.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. (Bruneton, 1999)

### 3.2.2.6. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes ce sont des pigments qui colorent les plantes (Bassas *et al*, 2007)

### 3.2.3. Rôles des composés phénoliques

#### 3.2.3.1. Rôle nutritionnelle

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la qualité nutritive et hygiénique des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques, utilisées par l'industrie pharmaceutique. On estime que la prise moyenne des polyphénols par l'Homme s'étend de 25 mg/jour à 1 g/jour. (Wang, *et al*. 2002).

**Tableau 6** : Bio-activité de certains composés phénoliques

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acides phénoliques	Antibactérienne Antifongique Anti-oxydante Antalgique	<b>DIDRY <i>et al.</i></b> <b>RAVN <i>et al.</i></b> <b>HAYASE et KATO</b> <b>RIBEREAU</b>
Flavonoïdes	Anti-carcinogène Anti-inflammatoire Anti-oxydante Antiallergique	<b>DAS <i>et al.</i></b> <b>BIDET <i>et al.</i></b> <b>ARUOMA <i>et al.</i></b> <b>MIDDLETON et</b> <b>KARDASNAMI</b>
Anthocyanes	Anti-oxydante Anti-tumorale Antifongique Anti-inflammatoire	<b>BAHORUN <i>et al.</i></b> <b>DE OLIVEIRA <i>et al.</i></b> <b>BROWNLEE <i>et al.</i></b> <b>KREOFISKY <i>et al.</i></b>

Tanins	Anti-oxydante Antibactérienne Vasoconstrictrice	<b>OKUDA et al.</b> <b>CAVIN</b> <b>PARIS et MOYSE</b>
--------	---	--

### 3.2.3.2. Rôle physiologique et écologique

Plusieurs travaux ont montré que les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaire, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (**Alibert et al. 1979**).

### 3.2.3.3. Rôle technologique

Les polyphénols sont partiellement responsables de nombreux caractères organoleptiques en industrie agroalimentaire, comme le goût, l'odeur et la couleur. L'astringence est la capacité des tanins à former des complexes stables avec les protéines et les sucres (**Vergé et al 1999**).

### 3.2.4. Les radicaux libres et le stress oxydant

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (**Lesgards, 2000**).

#### 3.2.4.1. Les antioxydants.

Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat. (**Halliwell et Gutteridge, 1999**). Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain d'autres tels les vitamines et polyphénols, doivent être apportés par notre alimentation. (**Pincemail et Defraigne, 2004**)

#### 3.2.4.2. Classification des antioxydants

##### 3.2.4.2.1 Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

- **Groupe I**

Sont les antioxydants primaires piègeur des radicaux libres. peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au l'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. (Frankel *et al*, 2000 ; Huang *et al*, 2005).

- **Groupe II**

Sont des antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. (Miller *et al*, 1996).

### 3.2.4.2.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique :

- **Les antioxydants naturels :**

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques. Ces antioxydants sont d'autant plus importants pour le stress oxydatif (Diplock, 1991)

- **Les antioxydants synthétiques :**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT)), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. (Lisu *et al*, 2003)

### 3.2.4.3. L'évaluation de pouvoir antioxydant des plantes médicinales

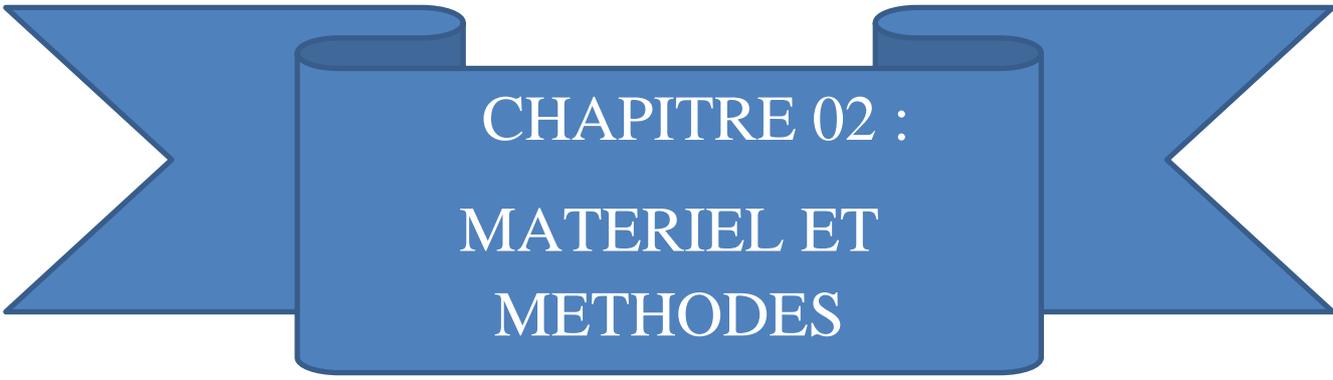
Sont nombreuses et peuvent être un méthode qualitatives, utilisée pour repérer l'activité antioxydant de Composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. (Li *et al*, 1999). Parmi ces méthodes on a mis en étude la méthode de piégeage du DPPH.

- **Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al*, 1995).



Expérimentation et résultats



CHAPITRE 02 :  
MATERIEL ET  
METHODES

## PARTIE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE 02 : MATERIEL ET METHODES

L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité biologique de l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*) et ces caractéristiques physicochimiques, commençant par :

- Activités biologiques :
  - activité acaricide de l'huile essentielle de la sauge sur le *Varroa jacobsoni* parasite d'*Apis mellifera intermissa* pour déterminer la dose la plus efficace pour neutraliser ce parasite et, la comparer par celle de l'Apivar qui est un produit chimique très utilisé en Algérie.
  - activité antimicrobienne
  - activité antioxydant
- Caractérisations physicochimiques et organoleptique de l'huile essentielle de la sauge
- Etude histologique des feuilles de la sauge

#### 1. Matériels

##### .1.1 Matériels biologique

##### .1.1.1. Les abeilles (l'espèce hôte de l'acarien)

Nous avons travaillé sur dix (10) ruches d'abeilles de l'espèce *Apis mellifera intermissa*, cette espèce tellienne est caractérisé par une :

- Présence de nervosité extrême lors des manipulations.
- Forte vitalité et fécondité.
- Forte accessibilité aux maladies du couvain (**Adam; 1964**).



**Figure 9** : Présentation de la colonie d'*Apis mellifera intermissa*.

### 1.1.2. Le parasite

L'acarien parasite de l'abeille *Apis mellifera* est le *Varroa jacobsoni* qui provoque la varroase.



**Figure 10** : Abeille infesté par le varroa

### 1.1.3. Les microorganismes

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne, 06 souches cité dans le tableau ci-dessous sont utilisées:

**Tableau 7:** Les souches des microorganismes étudiés

Microorganismes testés	Gram	Souche	Code	Références
Bactéries	Gram -	<i>Escherichia Coli</i>	EC	46 EC
	Gram +	<i>Staphylocoque</i>	Sta	ATCC 25923
	Gram+	<i>Streptocoque</i>	Str	ATB 81
champignons		<i>Fusarium</i>	Fus	Isolé de la tomate
		<i>Aspergillus Niger</i>	AN	Isolé du blé dur
		<i>Aspergillus Rivalz</i>	AR	

### 1.2. Matériels végétal

- Les feuilles fraîches du suage d'espèce *S. officinalis L*, prévenue 'Alger pour effectuer la coupe histologique et l'étude de teneur en eau
- Les feuilles sèches et conservées dans des sachets de papier d'espèce *S. officinalis L*, prévenue 'Alger pour effectuer les activités biologiques sont extrait se forme :

#### 1.2.1 L'huile essentielle

L'huile essentielle extraite par les feuilles de la sauge d'espèce *Salvia officinalis L.*, au niveau de laboratoire de BPAM, pour effectuer l'activité antiacaricide et l'activité antimicrobienne

### 1.2.2. L'extrait phénolique

L'extrait phénolique extrait par les feuilles de la sauge d'espèce *Salvia officinalis L.*, au niveau de laboratoire de BPAM, pour effectuer l'activité antioxydant

### 1.3. Matériels non biologique

Le matériel non biologique utilisé renferme l'appareillage, la verrerie et les produits chimiques sont présentés en (annexe 01).

#### 1.3.1. Matériels apicoles

##### A. Les ruches

- Dix (10) ruches de type Longschrote disposées en lignes. Elles sont dirigées vers l'exposition nord.



**Figure 11:** Disposition de 10 ruches sur le site d'expérimentation

##### B. Equipements apicoles

- L'enfumeur : l'utilisation de l'enfumeur sert à produire de la fumée pour réduire l'agressivité des abeilles et appliqué les traitements à base de fumée de plante choisie.
- Lève cadre : sert à décoller les nourrisseurs et les cadres propolisés.
- Combinaison : pour éviter les piqûres des abeilles.
- Les langes : qui sont utilisé dans elles pour le piégeage du varroa.

### C. Matériel utilisé pour le diagnostic

- La graisse : elle est nécessaire pour couvrir les langes sur lesquels tombent et s'engluent les parasites.
- Traitement chimique : Apivar.
- Antibiotiques : la Gentaxyne et la phloconazol
- Le radical libre DPPH

### 2. Méthodes

#### 2.1. Méthodes d'extraction

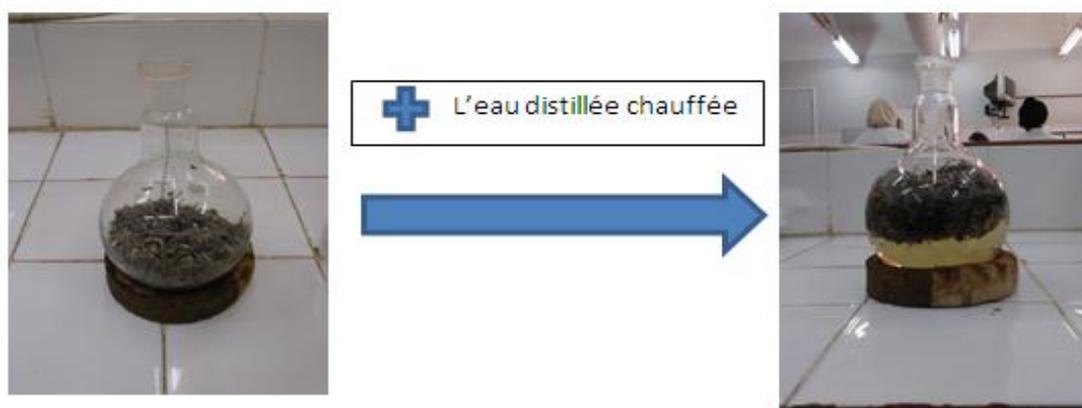
##### 2.1.1. Méthode d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles de la sauge est effectuée par la méthode d'hydro-distillation.

- . Préparation du matériel végétal

Nous avons commencé à enlèvent les tiges et couper les feuilles en petits morceaux pour les rendre prêtes à l'extraction.

Une quantité de 30 g des feuilles de la sauge sont mélangé avec 300 ml de l'eau distillée chauffé, pendant 10 minutes dans la microonde comme le montre la Figure 14.



**Figure 12:** Préparation du matériel végétal

- **Hydro distillation**

Après le mélange dans un ballon, porté à l'ébullition pendant 1.5 à 2.5 heures dans l'hydro-distillateur. Sous l'action de la chaleur, les cellules sécrétrices de l'huile essentielle éclatent et libèrent des composés organiques volatils. 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).

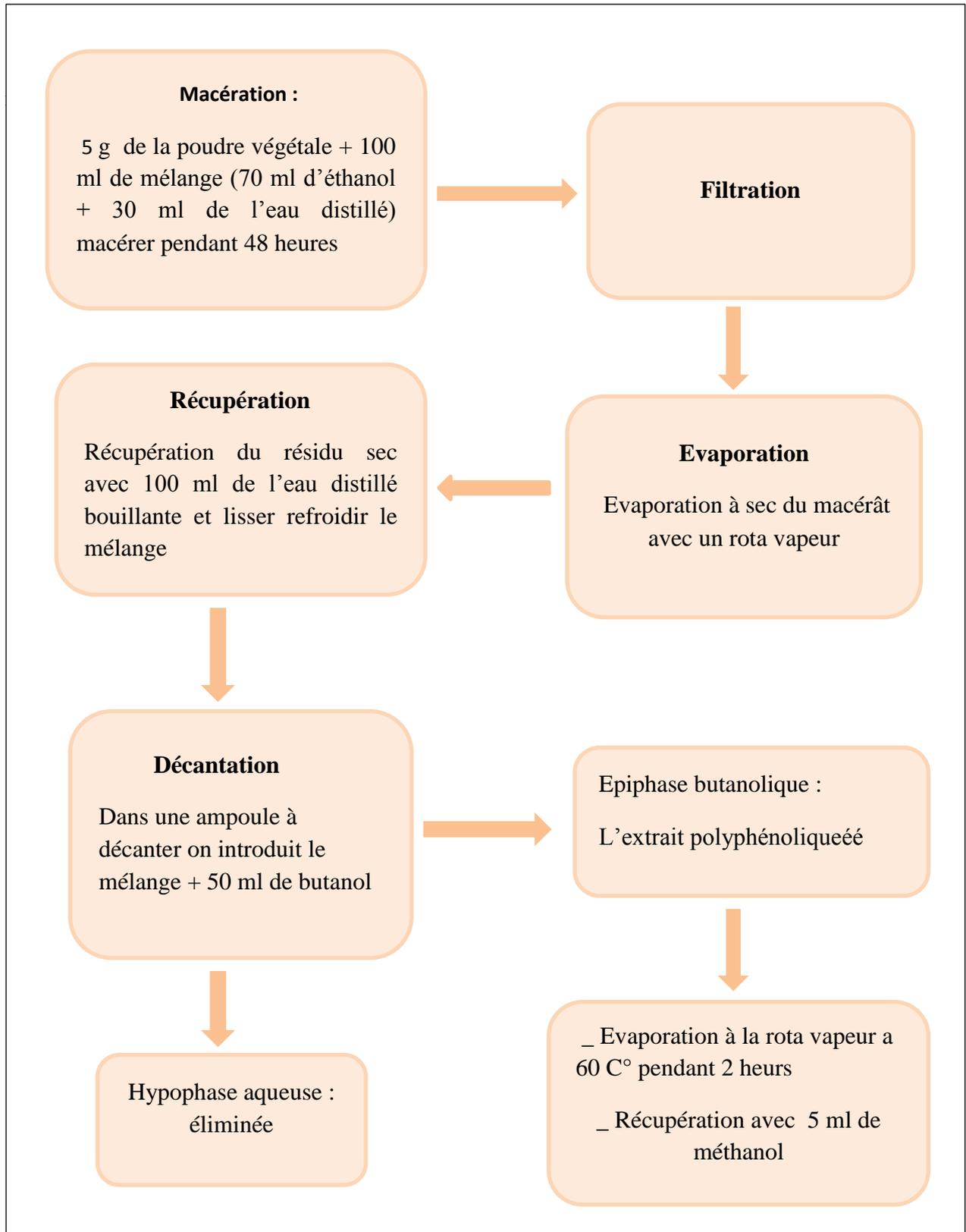
On observe ensuite petit à petit, la condensation au niveau du réfrigérant et la formation de gouttelettes jaune. Qui est d'abord plus légère que l'eau. Ceci qui permet à l'huile de descendre au-dessous de l'eau lors de l'extraction et nous oblige de la récupérer rapidement afin de ne pas la perdre (Figure 15).



**Figure 13 :** Hydro-distillateur

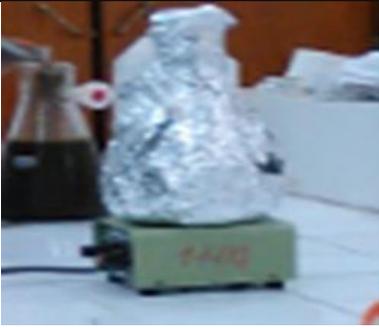
### 2.1.2. Méthode d'extraction des polyphénols

La méthode de l'extraction de polyphénole des feuilles de *Salvia officinalis* de la sauge et résumer sur le schéma suivant :



**Figure 14** : protocole expérimental d'extraction, de dosage et identification de l'extrait polyphénolique inspirait à la référence **Harborne (1973)**.

Les étapes de la méthode de l'extraction de polyphénole des feuilles de la sauge sont montrées dans les images suivant :

		
<p>Feuilles séchées sont broyées</p>	<p>Macération : 5 g de la poudre dans 100 ml de solution méthanolique pendant 2 jours</p>	<p>filtration</p>
		
<p>Evaporation au rota vapeur à 60 C°</p>	<p>Récupération de l'épiphase butanolique</p>	<p>Evaporation à la rota vapeur et récupération avec 5 ml de méthanol</p>

**Figure 15** : l'extraction de composé phénolique par les feuilles sèches de la sauge

## 2.2. Détermination du rendement

### 2.2.1. Détermination du rendement en huile essentielle

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

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R = m_B / m_A \times 100$$

**R** : rendement de l'huile essentielle en %

**m<sub>B</sub>**: quantité de l'huile essentielle en g

**m<sub>A</sub>** : quantité de la plante en g

### 2.2.1. Détermination du rendement des polyphénols

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanolique a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

**R (%)** : Rendement exprimé en %.

**M**: Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

### 2.3. Caractérisations physiques et chimiques de la plante de la sauge et leur huile essentielle

#### 2.3.1. Détermination de la teneur en eau de la plante

Elle consiste à déterminer la masse de la perte en eau d'une prise d'essai après un séjour de 24 heures à l'étuve. (**Pharmacopée européenne.2002**)

On place des rameaux feuillés de poids frais déterminé dans une étuve portée à 75°C. Les échantillons sont ainsi pesés chaque 24 heures jusqu'à la stabilisation du poids sec de la matière végétale. Son estimation se fait en pourcentage selon la formule :

$$T\% = (MF - MS). 100 / MF$$

**T%**: Teneur en eau (%)

**MF** : Masse fraîche

**MS** : Masse sèche

### 2.3.2. Détermination de l'indice de réfraction

La détermination de l'indice de réfraction, s'est faite selon la méthode officielle algérienne n° **11.95.08** équivalente à la méthode **ISO 6320 : 2000**.

L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse de la lumière, à une longueur d'onde définie dans le vide à celle dans l'huile.

- **Principe**

Mesurage à l'aide d'un réfractomètre convenable de l'indice de réfraction de l'huile essentielle de la sauge à une température de degré °C.

Mode opératoire

- Étalonnage de l'appareil : vérifier l'étalonnage du réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de la lampe de verre selon les instructions du fabricant.
- Mesurer l'indice de réfraction de l'eau et chercher une valeur bien déterminer IR : 1.333.
- Maintenir mesurer la température de la réfraction du l'eau à cette valeur.
- Immédiatement avant le mesurage, abaisser la partie mobile de la réfraction en position horizontale. Sécher la surface du prisme avec un chiffon délectable.
- Effectuer les mesurages conformément aux instructions opératoires de l'appareil utilisé.
- Lire l'indice de réfraction à 0,0001 près en valeur absolue et détermine la température du prisme de l'appareil.
- Immédiatement après le mesurage, sécher la surface du prisme avec un chiffon délectable.
- Réaliser deux autres mesurages de l'indice de réfraction.
- Prendre comme résultat de l'essai la moyenne arithmétique des trois mesurages.

- **Expression des résultats**

L'indice de réfraction IR t à la température de référence est égale a :

$$IR t = IR t1 + (t1 - t) F$$

**t1** : est la température de mesurage, en degrés Celsius.

**t** : est la température de référence, en degrés Celsius.

**F** : est un facteur de correction égal à 0,00035.

### 2.3.3. Détermination de l'indice d'acide

L'Acidité A% elle correspond à la teneur en pourcentage d'acide gras présent dans l'huile essentielle de la sauge et représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité ce dosage nous renseigne sur le degré d'altération de l'huile et d'estimer le taux libre dans l'huile essentielle (**Prinin, 1992**)

L'acidité est mesurée selon la norme (**ISO : 660–2003**)

- **Principe**

Repose sur la neutralisation de l'action des acides gras à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium de normalité 0.5 mol / l pour donner des savons selon la réaction suivant :

- **Mode opératoire**

La détermination est effectuée sur l'échantillon filtré : 2 ml d'huile essentielle de la sauge dissout dans 100 ml de mélange d'éthanol / éther d'éthylique (v / v) puis titré, en agitant avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) a 1 N en présence de 0.3 ml de la solution de phénolphaléine a 1 % dans l'éthanol, jusqu'à visage de l'indicateur (coloration rose).

- **Equation de l'acidité**

$$A \% = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

**V** : volume en ml de la solution titrée de KOH utilisé.

**C** : concentration exacte en moles / litre de la solution titrée de KOH utilisé.

**M** : poids molaire en g / mole, de l'acide adopté pour l'expression de résultat (= 282).

**m** : la pris d'essai en grammes.

- **Préparation**

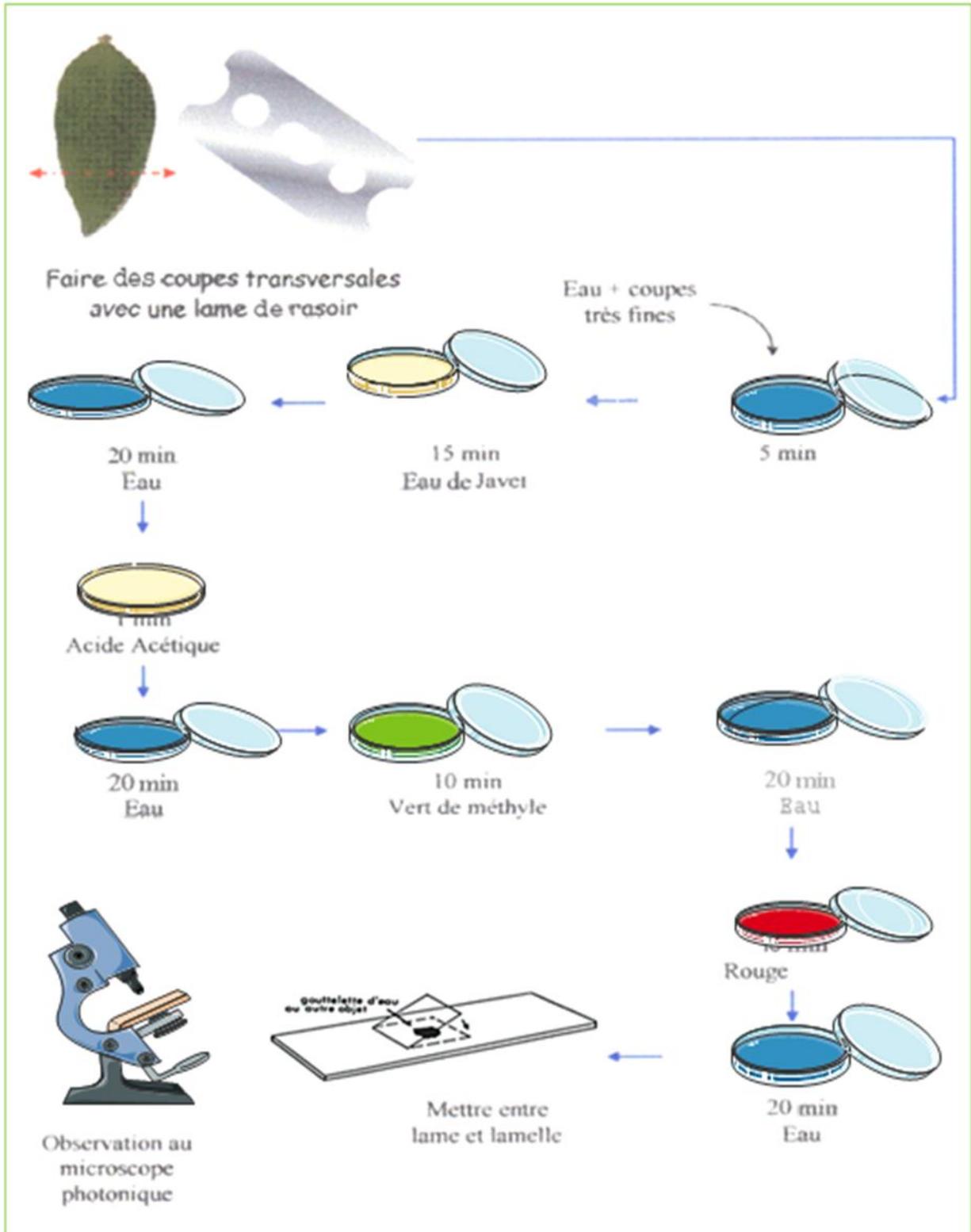
- 2g de KOH + 50 ml de l'eau distillé pour prépare la solution titré
- 3.125 ml d'éther + 3.125 ml d'éthanol pour prépare le éther éthanoïque + 1.7 g d'huile essentielle + 0.3 ml de phénolphtaléine
- Décanter le KOH gout a gout jusqu'à n'observe pas la colore rose
- Mesure le volume de solution KOH décanté pendant le titrage
- Calculer l'acidité d'huile essentielle

### 2.4. Coupe histologique

Les coupes histologiques réalisées à partir d'une matière végétale fraîche (un rameaux de la sauge contienne quelque feuille avec leur pétiole) selon les marches suivant

- Les coupes ont été réalisées à l'aide d'une lame de rasoir neuve. Le plan de la coupe doit être perpendiculaire au grand axe de la feuille, pour avoir des sections transversales. Les coupes doivent être aussi fines que possible et sont immédiatement recueillies dans l'eau pour éviter leur dessèchement.
- Le but de cette étude c'est de déterminé l'anatomie des feuilles de la sauge et la localisation des sites d'accumulation des huiles essentielles présentent dans cet organe.
- Coloration des parois :
- Pour la différenciation des tissus, nous avons utilisé la technique classique de double coloration (**Langeron.1949**), qui comporte les étapes suivantes :
- Un traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 minutes, afin de vider le contenu cellulaire, à l'exception des parois qui persistent.
- Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.
- Un traitement à l'acide acétique à 0.1% pendant 1 min, afin de neutraliser le pH et assurer la fixation des colorants sur les parois.
- Un traitement au vert de méthyle pendant 10min, pour colorer les parois lignifiées et subérifiées.
- Un rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.
- Un dernier traitement avec le rouge de Congo pendant 10 min, pour colorer les parois pécto-cellulosiques.
- Un dernier rinçage des coupes à l'eau de robinet.
- Les coupes ont été placées entre lame et lamelle pour l'observation au microscope photonique.

Les coupes histologiques réalisées sont obtenues suivant les différentes marches du protocole suivant :



**Figure 16:** schéma présente les étapes de réalisation d'une coupe histologique de double

Coloration.

### 2.5. L'étude de l'activité acaricide

- **Objectif du travail**

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet biologique de l'huile essentielle de la plante de la sauge (*Salvia officinalis*) pour l'activité antiacaricide sur le *Varroa jacobsoni* parasite d'*Apis mellifera intermissa* pour déterminer l'efficacité pour neutraliser ce parasite nuisible de l'abeille, la comparer par celle de l'Apivar qui est un produit chimique très utilisé en Algérie.

#### 2.5.1. Présentation de la zone d'étude

#### 2.5.2. Critères de choix du site

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

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

#### 2.5.3. Présentation du site

Notre étude a été réalisée au niveau du site de la station expérimental du département des biotechnologies, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université Blida I. Le rucher comporte dix ruches installées dans un verger constitué d'orangers entouré par les arbres d'eucalyptus et de casuarina.

La période d'expérimentation s'étale pendant 03 mois du 11/2016 au 01/2017.

#### 2.5.4. Les conditions de travail

- Ont été effectués à 10h du matin, en présence d'ensoleillement.
- Absence des vents, des pluies et de l'abreuvement.
- Pour diminuer la provocation des abeilles et les protéger du changement de l'environnement de la ruche.

### 2.5.5. Préparation des doses des huiles essentielles

Pour la préparation des dilutions d'huile essentielle, nous avons utilisé un tensioactif « le Tween 80 ». Les doses d'huile essentielle préparées dans des fioles jaugées sous agitation est comme suit

- 1er dose (D1) : 5 % : 0.5 ml d'HE + 99.05 ml de tween
- 2ème dose (D2) : 15 % : 1.5 ml d'HE + 98.5 ml de tween
- 3ème dose (D3) : 20 % : 2 ml d'HE + 98 ml de tween

Ensuite, nous avons préparées des lanières en papier buvard de 18cm de long et de 5cm de largeur, imprégnées chacune par 10 ml des différentes dilutions (D1, D2, D3).

Pour les ruches de témoins et le traitement chimique ne préparer pas des papiers buvard mais en met seulement la graisse pour conter les varroas tombées.



**Figure 17:** Disposition de lanières en papier buvard portant le traitement, sur les langes graissées.

Pour le traitement chimique par Apivar (C'est un des plusieurs produits homologués utilisé en apiculture dans l'Algérie) nous avons utilisé 02 lanières par ruche qui sont placées verticalement entre les cadres, elles changent après 15 jours.



**Figure 18:** Disposition des 02 lanières d'Apivar dans la ruche

### 2.5.6. Présentation des lots expérimentaux

Dans le protocole adopté, nous avons travaillé sur 10 ruches infestées par *Varroa jacobsoni*, distribuées en cinq lots (T : Témoin, D1 : Dilution 5%, D2 : Dilution 15%, D3: Dilution 20 %, AP : Apivar), Chaque lot contient deux ruches, le nombre de traitements est de un par semaine pendant un mois (Tableau 8)

**Tableau 8 :** Protocole expérimental de traitement

Numéro de lots	Type de Lots	Ruches	Type de traitement
1	D1	R1, R2	Traité par une dose de 5% d'huile essentielle
2	D2	R3, R4	Traité par une dose de 15% d'huile essentielle
3	D3	R9, R10	Traité par une dose de 2% d'huile essentielle
4	AP	R7, R8	Apivar
5	T	R5, R6	Témoins (sans traitement)

### 2.5.7. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie

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

Ce choix repose sur un fait :

- La majorité des Varroas qui vont mourir tomberont sur les langes et il sera facile de les dénombrer (**Robaux., 1986**) (Figure 19).

Le comptage des Varroas a été réalisé quatre fois par mois, à raison d'une fois par semaine (7 jours) après le traitement. 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 19** : Méthode d'utilisation des langes et du comptage du varroa.

### 2.5.8. Méthode d'estimation du nombre d'abeilles dans une colonie

Il nous a été facile d'estimer le nombre d'abeilles dans les ruches, car un cadre de type Longschrote contient 250 grammes d'abeilles dont le poids moyen d'une abeille est estimé à 0.1 gramme, donc un cadre aurait 2500 abeilles. (**Berkani., 1985**)

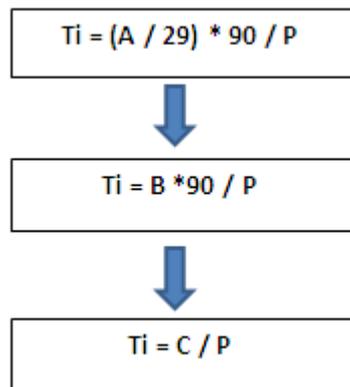


**Figure 20** : Estimation du nombre d'abeilles dans une colonie.

### 2.5.9. Méthode d'estimation du taux d'infestation d'une colonie

Après avoir estimé le nombre de varroa et d'abeilles dans une colonie, le taux d'infestation de cette dernière peut être évalué comme suit :

Le taux d'infestation initiale  $T_i$  est obtenu en faisant le rapport :



**A** : correspond au nombre de varroa morts pendant un mois

**B**: correspond à la mortalité journalière de varroa obtenue par une simple division  $A / 29$  jours.

**C** : correspond au nombre de varroa estimé dans une colonie en faisant la multiplication  $C = B \times 90$  jours (90 jours correspond à la durée de vie des femelles varroas).

**P** : correspond au nombre d'abeilles estimées dans une colonie.

### 2.6. L'étude de l'activité Antimicrobienne

- **Objectif du travail**

L'objectif de cette partie est d'étudier l'Activité Antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante de la sauge (*Salvia officinalis*), pour évaluer leur effet sur différentes germes microbiennes.

### 2.6.1. Stérilisation du matériel

On stérilise les différents matériels utilisés dans la préparation des solutions bactériennes (inoculum) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes.

### 2.6.2. Isolement des colonies

Les bactéries ont été isolées de leur boîtes Pétrés et cultivées sur les tubes de gélose nutritif de conservation par des pipettes Pasteur stériles pour transférer au laboratoire de BPAM puis en cultivé dans des boîtes Pétrés stériles par l'utilisation des Ecopions stériles, et les champignons sont trouvés directement dans un milieu physiologique préparé en peut cultiver directement sur les boîtes Pétrés.

Les boîtes Pétrés de gélose nutritive sont incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries. Les champignons sont cultivés sur l'extrait de malte puis incubés à 37°C pendant 48h.

### 2.6.3. Préparation des dilutions

La technique de préparation des dilutions dans la norme (**AFNOR. NF 08 010 de Mars 1996**), il existe parallèlement une norme (**ISO 6 887 de 1999**). Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions stérilisantes : Mélanger 1 ml d'huile essentielle de la sauge avec 09 ml de Tween pour l'obtention de la solution mère. On prélève aseptiquement 1 ml de la solution mère à l'aide d'une pipette graduée stérile et met dans une bouteille stérile contenant 09 ml de Tween pour l'obtention de la première dilution. On prélève aseptiquement 2 ml puis prélevés 4 ml de la même manière que la première bouteille et en compléter chacun jusqu'à 10 ml par le Tween (Tween 80 est un émulsifiant/solubilisant "huile dans eau", il est soluble dans l'eau et permet à l'huile de bien se mélanger à l'eau). En obtenant à la fin 03 bouteilles. Comment montre le tableau suivant

**Tableau 9** : préparation de différentes dilutions

solution	symbole	Solution initiale	Tween	Solution finale
Solution Mère	SM	1 ml d'HE	9 ml	10 ml
Dilution 1	D1	1 ml de SM	9 ml	10 ml
Dilution 2	D2	2 ml de SM	8 ml	10 ml
Dilution 3	D3	4 ml de SM	6 ml	10 ml

### 2.6.4. Préparation des disques

Les disques de papier Wattman n°1 de 09 mm de diamètre, stérilisés avant l'utilisation au l'autoclave (120°C pendant 30 min), charger par huile essentielle de la sauge par un micropipette stérile a un quantité bien défini de 0.5 µl de chaque dilution dans chaque disques, d'autre disques sont charger de l'eau physiologique et Tween sont utilisés comme contrôle négatif, la Gentaxyne est utilisé comme contrôle positif pour les bactéries, et la phloconazol est utilisé comme contrôle positif pour les champignons.

### 2.6.5. Préparation de milieu de culture

Les géloses nutritive pour les bactéries et l'extrait de malte pour les champignons fondues sont coulées sur boîtes Pétrés stériles, en travaille au l'haute prés de bec benzène.

### 2.6.6. Préparation des antibiotiques

#### 2.6.6.1. Préparation de l'antibactérienne

En prendre 0.5 ml de solution de Gentaxyne et en ajoute à 9.5 ml de l'eau distillé, en peut maintenant charger les disques par 0.5µl pour utiliser comme un antibactérienne

#### 2.6.6.2. Préparation de l'antifongique

Le phloconazol est met dans un chaque 1ml de l'eau distillé 1ml de solution et en peut préparer facilement le volume qui besoin qu'est 10 ml, en peut maintenant charger les disques par 0.5µl pour utiliser comme un antifongique.

### 2.6.7. Protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques (**Rahal et al. 2005**)

### **2.6.7.1. Préparation de l'inoculum**

Dans la zone septique du bec benzène et à partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son capacité doit être équivalente à 0.5 MC Farland correspondante à  $10^6$  UFC /ml. L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

### **2.6.7.2. Ensemencement et dépôt des disques**

Tremper un Ecopion stérile dans la suspension bactérienne, en le tournant sur la paroi interne du tube. Frotter l'Ecopion sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de  $60^\circ$  à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'Ecopion sur la périphérie de la gélose. Recharger l'Ecopion à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. Des disques chargés par les solutions préparées sont déposés sur la surface de la gélose inoculée. Les boîtes Pétrés ont été incubées à  $37^\circ\text{C}$  à 24 heures pour les bactéries. Les champignons sont cultivé sur l'extrait de malte puis incubés à  $37^\circ\text{C}$  pendant 48h.

### **2.6.7.3. Lecture des antibiogrammes**

La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à règle, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte. La solution est considéré actif lorsqu'on mesure une zone d'inhibition autour du disque d'un et à l'intérieur de laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée.

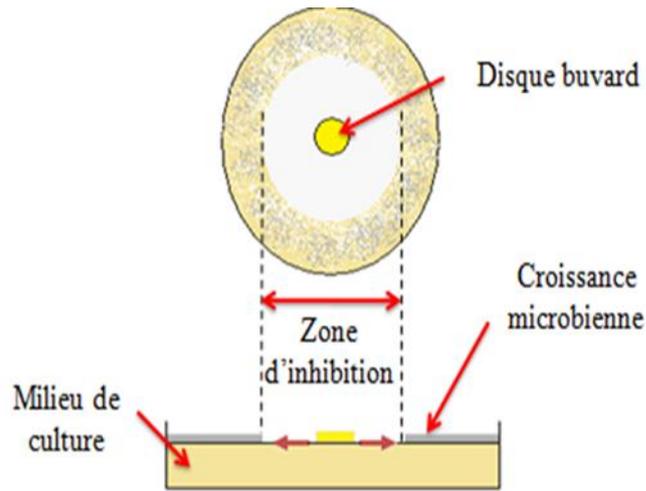
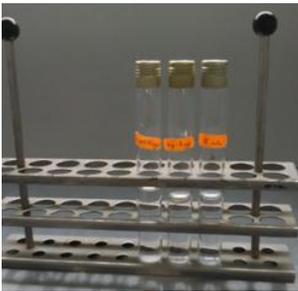


Figure 21 : Illustration de la méthode d'antibiogramme sur boîte de Pétri

Les différents étapes de travail ce résumer dans le tableau suivant :

Tableau 10 : les étapes de réalisation l'activité antimicrobienne

			
<p>Les souches bactériennes dans les tubes conservatrices</p>	<p>Préparation des suspensions bactériennes</p>	<p>Antimicrobiennes</p>	<p>incubation</p>

			
Les suspensions des souches fongiques	Préparations des disques et leurs stérilisations	Encensements de différentes souches sur le milieu	antifongiques

### 2.7. Activité antioxydant

#### 2.7.1. Activité anti-oxydante de composé phénolique d'extrait méthanolique

##### Objectif de travail

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydant de l'extrait polyphénolique de la sauge ont été réalisé : le pouvoir de piégeage du radical DPPH. Le pouvoir antioxydant de l'extrait phénolique a été comparé à un antioxydant de synthèse qui est l'acide ascorbique.

#### 2.7.2. Préparation des dilutions de solution extrait

La méthode de préparer les dilutions de l'extrait phénolique est exprimée dans le tableau suivant :

**Tableau 11:** la méthode de préparation des dilutions de l'extrait phénolique

Numéro	Solution mère	méthanol	DPPH
1	0.1 ml	0.9 ml	4 ml
2	0.2 ml	0.8 ml	4 ml
3	0.4 ml	0.6 ml	4 ml
4	0.6 ml	0.4 ml	4 ml

5	0.8 ml	0.2 ml	4 ml
6	1 ml	0 ml	4 ml

### 2.7.3. Préparation de témoin

#### 2.7.3.1. Mesure de concentration de l'extrait

Dans un bicher vide en mai 1 ml de la solution mère et en met dans un l'étuve jusqu'à chauffer tout la solution puis en mesure le résidu pour détermine la concentration de l'extrait phénolique et en peut avoir la quantité exacte de l'acide ascorbique en ne besoin utilisée.

La formole de mesure est comme suit :

$$C = ME - MV$$

**C** : concentration de l'extrait mlg / ml

**ME** : masse de bicher avec l'extrait

**MV** : masse de bicher vide

#### 2.7.3.2. Préparation de solution mère de témoin

En prene 15 mlg de l'acide ascorbique et en met dans 5 ml de méthanol et agiter

#### 2.7.3.3. Préparation des dilutions de témoin

La méthode de préparation les dilutions de l'acide ascorbique c'est la même pour les dilutions de solution extrait que montrée le tableau en avant

### 2.7.4. Préparation de solution control

En met dans tube 1 ml de méthanol et en ajoutent 4 ml de DPPH.

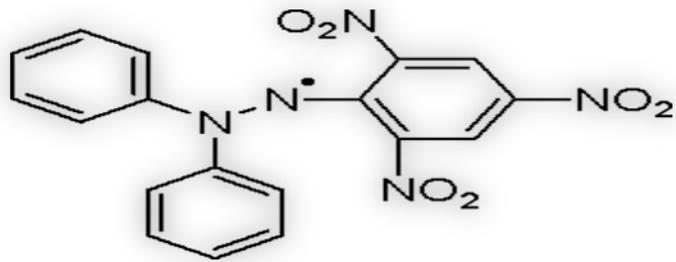
### 2.7.5 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

- **Principe :**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques, Il possède un électron non apparié sur un atome de

Le pont d'azote, le DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violette bien caractéristique de la solution de DPPH.

La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH, mesurable par spectrophotométrie à une absorbance de 515 à 518 nm.

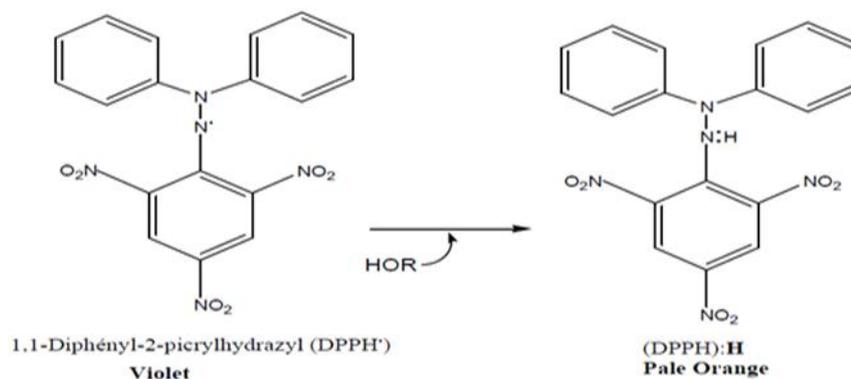


**Figure 22 :** Structure chimique du radical libre DPPH

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- la libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certaines acides et dérivées phénoliques).
- la libération d'un électron (cinétique lente).

Dans le cas des composés phénoliques, le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH, alors, transformé en une molécule stable DPPH-H (figure 26).



**Figure 23:** Réduction du radical DPPH•

- **Mode opératoire**

Le test utilisant le radical DPPH est réalisé, en suivant la méthode décrite par **Sahin et al. (2004)**. 20 mlg de DPPH (0.0024 g/100 ml méthanol) sont ajoutés dans une bouteille contienne 100 ml de méthanol agiter puis ajouter 4 ml aux déférentes dilutions preparer et après incubation pendant 30 min et l'absorbance a été mesuré à 517 nm contre le méthanol. L'expérience est répétée 3 fois pour chaque dilution.

Le pourcentage d'activité antioxydante (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I \% = [(AC - A\acute{e}ch) / AC] \times 100$$

**A C** = Absorbance de solution contrôle du DPPH additionnée de méthanol.

**Aéché** = Absorbance de l'échantillon testé après 30 minutes.

Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour l'acide ascorbique prisent comme antioxydant standard.

### **2.7.6. Mesure de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50).**

Elle est définie comme : la quantité ou la concentration d'antioxydants nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (I%) en fonction de la concentration de l'antioxydant.

### **2.8. Analyse statistique (Test d'ANOVA).**

Les résultats de l'activité acaricide contre le varroa parasite des abeilles traité par l'huile essentielle de la sauge ont été soumis au test de l'analyse de la variance ANOVA selon plusieurs critères de classification, suivi par le test de **Newman et Keuls** à 5 %, lorsqu'il existe une différence significative entre les différents traitements.



CHAPITRE 03:  
RESULTATS ET  
DISCUSSION

## CHAPITRE 03 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Evaluation du rendement

#### 1.1. Evaluation du rendement de l'huile essentielle

L'extraction par hydro distillation de 30 g des feuilles de *Salvia officinalis* a donné une quantité de 0.17 g d'huile essentielle, avec laquelle nous avons calculé le rendement qui est (0.56%).

#### 1.2. Evaluation du rendement de polyphénolique

La préparation des extraits à partir des feuilles de la sauge été effectuées selon la méthode :

- Le méthanol 70 %
- L'eau distillée 30 %

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau et l'extrait a été caractérisé par son rendement, sa couleur et son aspect.

**Tableau 12:** Masse, rendement et couleur de l'extrait obtenu

Extraits	Solvant	Masse (g)	Rendement %	Couleur	aspect	absorbance
polyphénol	Méthanol + l'eau distillée	05	1.5	maron	pataux	0.276
Les images						

### 2. Caractérisation physique et chimique de l'huile essentielle

#### 2.1. Teneur en eau

La plante étudiée n'est pas une plante ligneuse (herbacée), les analyses de nos échantillon sont révélés, dans laboratoire de BPAM, un pourcentage plus au moins élevé avoisinant 07,93% de l'eau dans la plante, et la distinction dans la teneur en eau est probablement due d'un coté à la nature méditerranéenne de notre plante

#### 2.2. Indice de réfraction

Le tableau 13 montre que l'huile essentielle de la sauge avoir un résultat acceptable par rapport aux Norme mondiale et proche de celle de l'Algérie à une valeur égale à 1.471. Ceci montre la bonne qualité de l'huile extraite par hydro-distillation

**Tableau 13** : Résultat de l'indice de réfraction de l'huile essentielle de la sauge

caractère	résultat	Algérie	Norme
l'indice de réfraction	1.471	1.467	1.4740–1.480

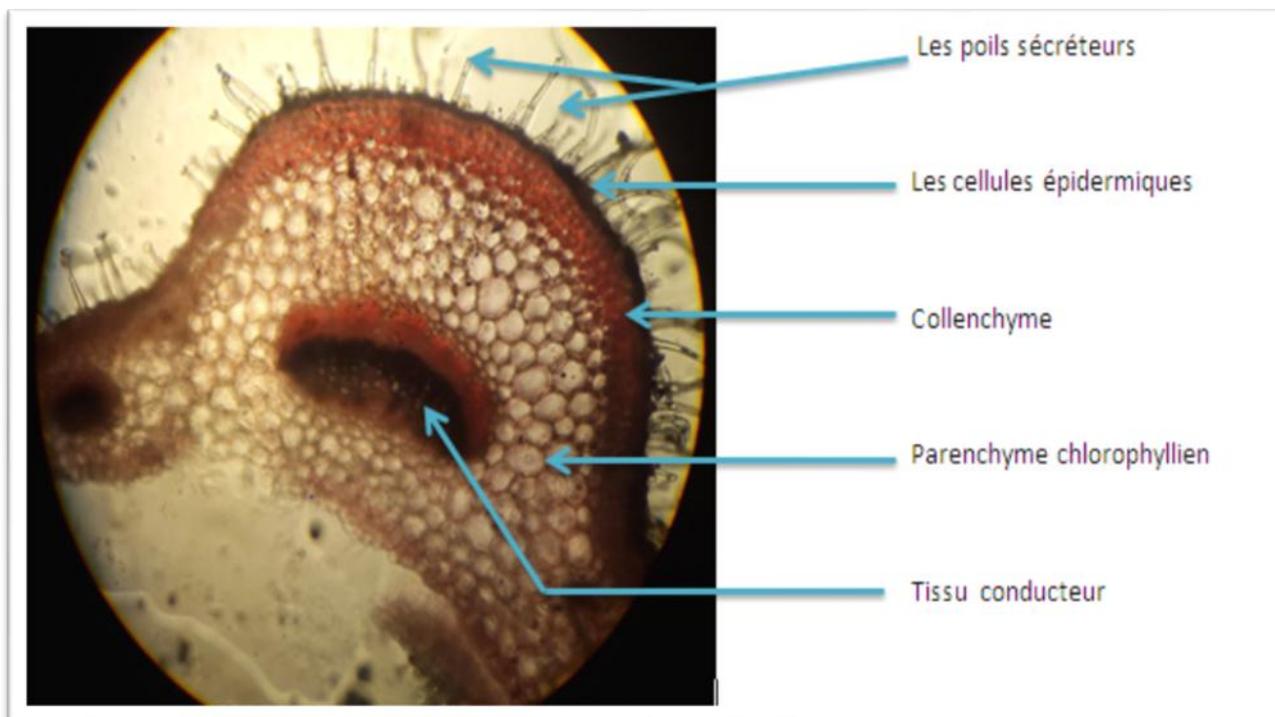
#### 2.3. L'indice d'acide

Le tableau qui représente le résultat de l'indice d'acide montre qu'il y a une différence par rapport au résultat de l'Algérie qui avoir la plus grande valeur, en absence d'une échelle mondiale notre résultat est reste primitif. Cette différence est probablement due à l'origine géographique de la plante.

**Tableau 14**: Résultat de l'indice d'acide de l'huile essentielle de la sauge

caractère	résultat	Algérie	Norme
l'indice d'acide	1.9	4.6	-

### 3. Etude Hristo-anatomique



**Figure 24** : Coupe transversale dans le pétiole de *Salvia officinalis* observé en microscope photonique : (G X 400).

Les feuilles de la sauge présente une structure histologique. L'épiderme est constitué par une seule assise de cellules épidermiques, il est suivi d'un collenchyme représenté par trois assises de cellules rondes.

Plus profondément, se situe le parenchyme chlorophyllien lacuneux, qui est parcouru par les nervures secondaires. Du côté de toute la face de la feuille, on note la présence des poils sécréteur qui polyforme certaine unicellulaire et autre bi ou tri-cellulaire portent aussi des poils tecteurs, situé au côté de pétiole, des cellules de collenchyme organisées en amas. Le tissu conducteur qui contienne le xylème au centre entouré par phloème. (Figure 24).

La fonction sécrétrice des feuilles est assuré par la présence des poils sécrétrices sous forme des cellules allongées se termine par des vésicules sphériques ou oblongues, délimitées par une rangée de cellules épidermiques de la face supérieure qui se trouve beaucoup par rapport à la face inférieure. (Figure 24)

On suppose que les cellules du parenchyme chlorophyllien occupent le milieu de la feuille de la plante, car elles est responsable pour donne la couleur vert à la plante. (Figure 24) **Luckow et Grames (1997)** ont proposé quatre hypothèses démontrant le rôle de ces cavités sécrétrices

- Elles protègent contre les insectes prédateurs et les herbivores.
- Elles attirent les pollinisateurs.

#### 4. Activité acaricide

##### 4.1. Test de toxicité des huiles essentielles sur les 'abeilles

Nous avons trios bouteilles, dans chacun bouteille cinq abeilles et 10 ml de solution traité avec un des concentrations déférentes (D1 : 5%, D2 : 15%, D3 : 20%) déposée sur la face interne au fond de la bouteille sur un morceau de compresse. Après 30 mn d'observation, nous avons remarqué que les abeilles n'ont présenté aucune anomalie physique ou comportementale, elles se sont envolées à l'ouverture de la boite. Ce teste montre la non toxicité de huile essentielle pour les abeilles domestiques à ces concentrations.



**Figure 25 :** Toxicité des huiles essentielles de l'espèce *Salvia officinalis* sur

l'abeille

### 4.2. Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches et lots

#### 4.2.1. Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches avant traitement par l'HE de la sauge

Le tableau suivant représente l'estimation de taux d'infestation par le parasite de varroa sur les différentes ruches et sur les lots des abeilles avant traitement par l'huile essentielle de la sauge

**Tableau 15** : Estimation du taux initiale de l'infestation des ruches et des lots des abeilles par le parasite de varroa avant traitement par l'huile essentielle de la sauge

Numéro de ruche	Nombre de varroa morts après 01mois A	Mortalité moyenne/j $B=A/29$	Population varroa estimé $C=B*90$	Nombre des abeilles P	Taux d'infestation Initiale $T_1\%$	Taux d'infestation Initiale par lot (%)
1	422	14.551	1309.59	15200	6.03	8.21
2	114	3.931	353.79	12750	2.18	
3	91	3.137	282.33	0	0	0.73
4	131	4.517	403.53	40300	0.73	
5	236	8.137	732.33	11500	5.89	9.39
6	209	7.206	648.54	18300	3.50	
7	385	13.275	1194.75	35000	2.89	2.89
8	433	14.931	1272.51	0	0	
9	630	21.724	1955.16	0	0	8.28
10	502	17.310	1557.90	17950	8.28	
Somme	3153	108.719	9710.43	151000	29.5	29.5
Moyenne	315,3	10.8719	971.043	15100	2.95	2.95

D'après le tableau n°15, nous remarquons que toutes les colonies du rucher sont parasitées par le varroa et présentent un degré d'infestation qui varie de 0 % à 8.28 %, soit une moyenne de 2.95 %. Cette intensité de l'infestation est très hétérogène au niveau des ruches et des lots.

Nous avons enregistré :

- Trios ruches premiers avec un taux d'infestation égal 0 %.

- Quatre ruches centrales avec taux d'infestation entre 0 % et 5 %, (inférieure à 5 %).
- Trois ruches dernières avec un taux d'infestation entre 5 % à 10 %, (supérieur à 5 %).

On compare ces résultats à ceux présentés par plusieurs auteurs notamment Ritter ; 1983 cité par **Robaux (1986)**, les quatre ruches centre avec un taux d'infestation entre 0 % et 5 % présentent une infestation faible, les varroas ne sont pas facilement visible et la colonie est considérée comme étant faiblement parasitée et aucun traitement ne s'impose dans l'immédiat.

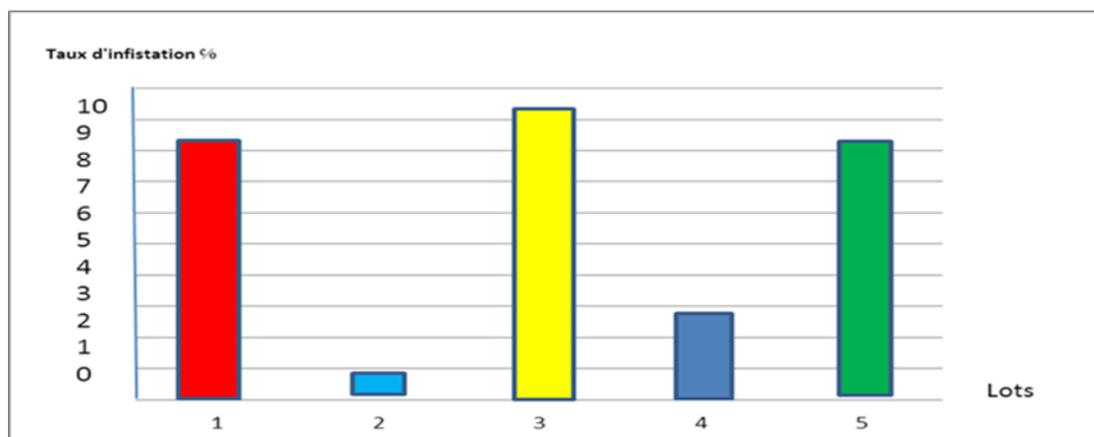
Les trios dernières ruches présentent une infestation assez élevée, mais les symptômes ne sont pas encore apparents, ces colonies risquent de passer un hivernage difficile si aucun traitement n'est planifié.

Pour ces trois premier ruches, cette colonie savoir des symptômes évidents. Si le diagnostic est fait au printemps, la colonie ne passera pas l'hiver car elle est fortement atteinte et les troubles apparus au sein de la colonie deviennent évidents et, sont surtout d'ordre morphologique et le renouvellement des abeilles n'est pas assuré avec un grand risque d'effondrement de la colonie.

Pour les trois ruches premier leurs taux d'infestation est nul, par ce que ces ruches sont parasité par les papillons et les guêpes et vidée par les abeilles.

### **4.2.2. Estimation du taux d'infestation initial des différents lots avant traitement par l'HE de la sauge**

Les résultats présentés dans la figure 26 : montrent le taux d'infestation des différentes lots avant traitement par l'HE de la sauge, le lot n° 3 est plus infestée avec un taux d'infestation de 9.39%, le lot n° 1 et lot n° 5 ont une infestions moyenne de 8.21 % et 8.28 % par la suite et les lots 2 et 4 ont une faible infestation par rapport aux lots précédant de 0.73 % et 2.89



**Figure 26** : Histogramme représente le taux d'infestation initial des différents lots avant traitement par l'HE de la sauge.

### 4.3. Evaluation de la mortalité de varroas dans différentes ruches

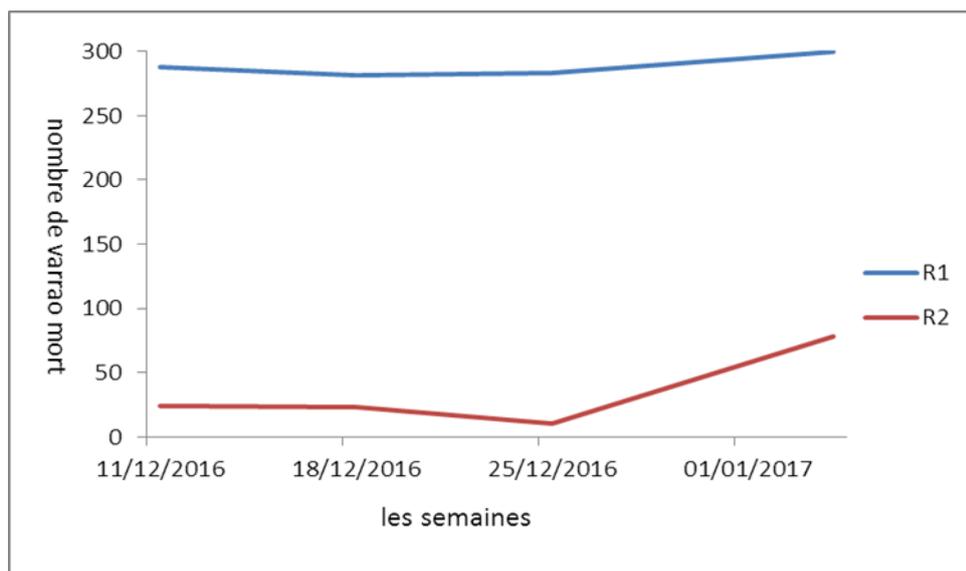
Dans cette partie nous vous présentons la variation de la mortalité de varroa au niveau des ruches et des lots traités et non traités par les huiles essentielles de la sauge.

#### 4.3.1. Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'HE de la sauge

##### A. Traitement à la concentration 5% (Lot n° 1/D1)

Selon la figure 27, on observe que la dose D1 dans les ruches 1 et 2 a provoqué un taux de mortalité stable entre la première et la deuxième semaine puis une diminution à partir de la troisième semaine de traitement et le taux de mortalité augmente en dernière semaine.

L'effet acaricide le plus remarquable est observé après le premier traitement, qui continue à augmenter jusqu'à atteindre 23.78% de mortalité. Ceci revient à la population d'abeille qui est importantes et égale à 17950. (Annexe 02)



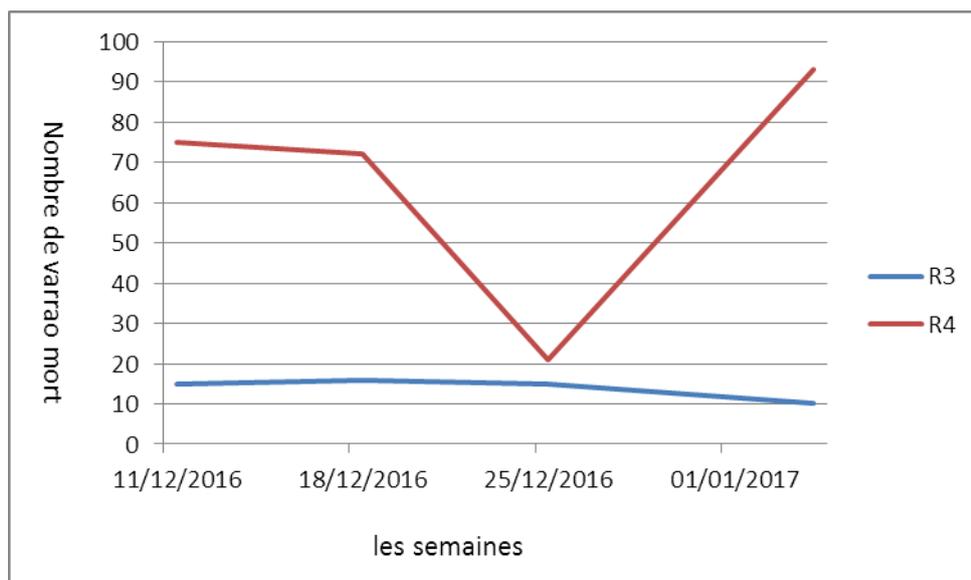
**Figure 27** : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l'huile de la sauge à la concentration 5%.

### **B. Traitement à la concentration 15% (Lot n° 2/D2)**

La figure 28 montre que nous avons une stable considérable de varroas durant les sept premiers jours qui, ont subi la 1ère application de traitement, une diminution de mort de ces acariens à partir de la 2ème semaine est observée après la 2ème application. Les comptages suivants ont révélé une augmentation de varroas notamment à partir la 3ème semaine pour la ruche N° 4.

Pour la ruche N° 3, nous remarquons une stable considérable de varroas durant les deux premières semaines qui ont suivi la 1ère et 2ème application de traitement. Mais les comptages suivants ont révélé une baisse de nombre de varroas notamment à partir de la 3ème semaine, ensuite le nombre de varroa morts diminue avec le temps.

On observe que la dose D2 a provoqué dans la ruche 4 un taux de mortalité élevé qui augmente de la première semaine mais diminue à la 2ème semaine puis augmente à la 3ème semaine de traitement ou en avoir l'effet acaricide de traitement, qui continue à augmenter jusqu'à atteindre 1.76% de mortalité. Ceci revient à la population d'abeille qui est importantes et égale à 40300. (Annexe 02)

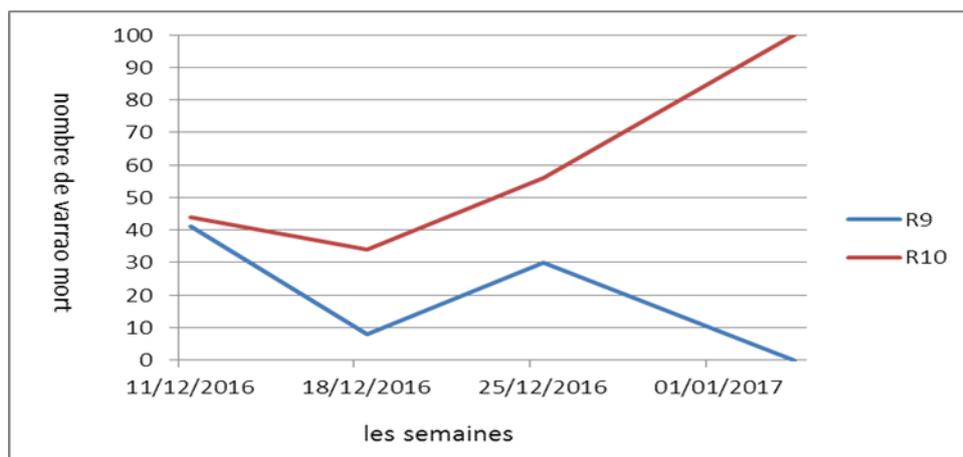


**Figure 28** : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l’huile de la sauge à la concentration 15%

### C. Traitement à la concentration 20% (Lot n° 5/D3)

La figure 29 montre que nous avons dans les deux ruches R9 et R10 une chute considérable de varroas durant les sept 1ers jours qui ont suivi la 1ère application de traitement, une augmentation de la chute de ces acariens à partir de la 2ème semaine est observée après la 2ème application. Les comptages suivants ont révélé une baisse très progressive de varroas notamment à partir la 3ème semaine pour la R9 par contre la R10 reste augmente a un taux de mortalité très élevée correspond à un taux d’infestation élevé (R10/D3). Ceci revient à la population d’abeille qui est égale à 17950. (Annexe 02)

On note un pic (3ème semaine), période qui correspond à l’émurgence de jeunes abeilles de leur cellule qui engendre la libération de jeunes varroas sensible et succombent aussitôt au traitement.



**Figure 29** : Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par l’huile de la sauge à la concentration 20%

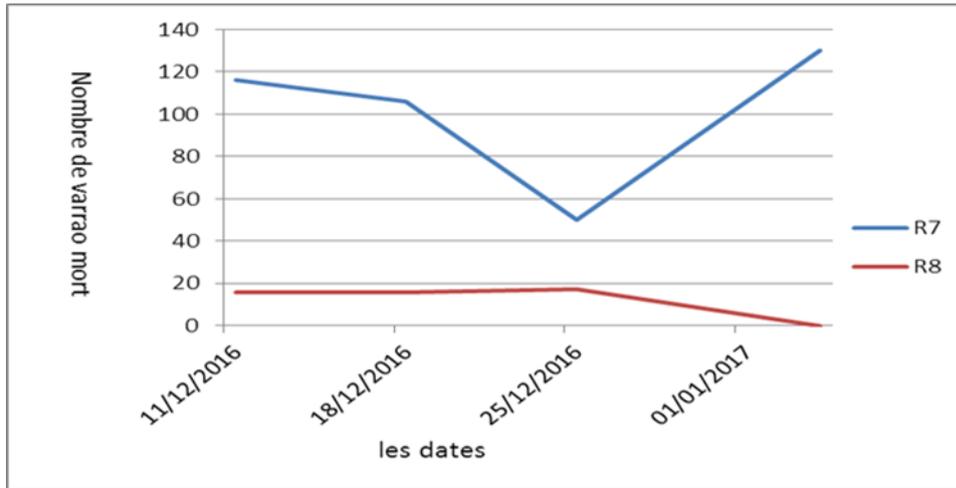
### D. Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches par l’Apivar (lot n°4/AP)

Selon la figure 30, nous avons noté une diminution considérable de varroas durant les sept jours 1ers qui ont suivi la 1ère application de traitement. Une chute considérable de varroas est observée à la 2ème application, suivi d’une augmentation de varroas morts à la 3ème application pour la R7.

Mais les comptages ont révélé une baisse très progressive de varroas notamment pour la R8.

On note un pic (3ème semaine), qui correspond à la 2ème application de traitement chimique qui se fait chaque 15 jrs voisin de l’emergence des jeunes abeilles de leur cellule qui engendre la libération des jeunes varroas sensible au traitement.

On observe que la mortalité la plus grande correspond à la ruche qui a un taux d’infestations élevées (R8/AP). Ceci revient à la population d’abeille infestée qui est égale à 35000. (Annexe 02).



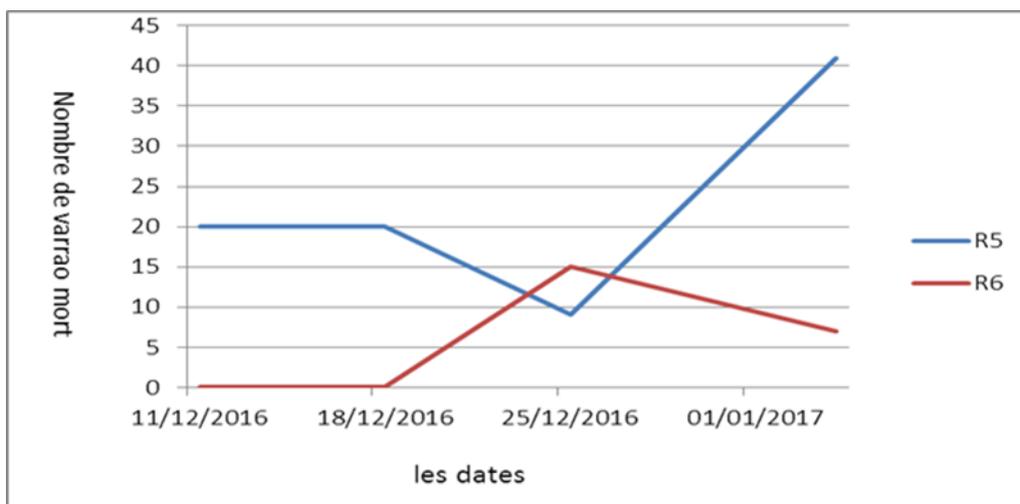
**Figure 30:** Evolution de la mortalité de varroas des différentes ruches traitées par Apivar

### E. Témoin (lot n°3/TM)

Sur la figure 31, on note une stabilité de nombre de varroa mort à la 1ère semaine pour les deux ruches. Ensuite le nombre de varroas morts diminue dans la R5 au 2ème semaine puis le nombre augmente à la 3ème semaine.

Pour la ruche n°6, on observe un pic à 3ème semaine, ensuite le nombre de varroas morts diminue avec le temps.

On observe que la mortalité la plus grande correspond à la ruche qui a un taux d'infestation élevé (R5/T). Ceci revient à la population d'abeille qui est égale à 29800 (Annexe 02)

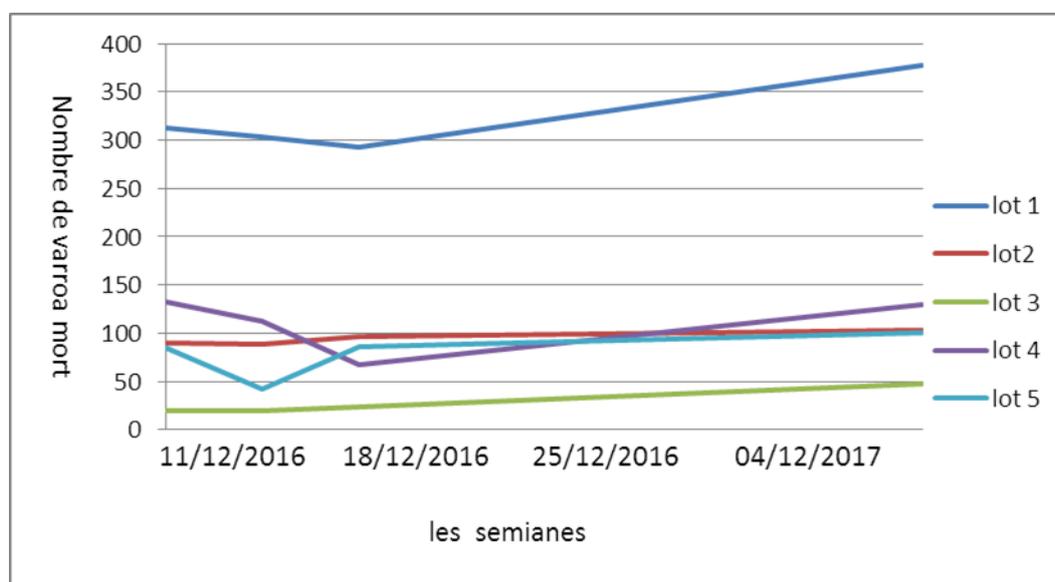


**Figure 31:** Evaluation de la mortalité de varroas des différentes ruches pour le lot témoin

### 4.3.2. Comparaison entre les lots

La figure 32 montre que l'effet acaricide est positif sur le *Varroa jacobsoni* chez le lot n°1 de la D1a un taux très élevée avec une supériorité de la mortalité du varroa montrée par rapport aux autres lots.

Par rapport aux résultats des lots n° 2, 4 et 5, le taux de mortalité est élevé dans la première semaine et l'infestation reprend légèrement à la deuxième semaine en raison de la sortie des jeunes abeilles infesté ensuite reste presque stable jusqu'à la dernière semaine. Pour le lot 1 (témoin) l'infestation diminue en raison la mort des abeilles ensuite augmente linéairement durant le mois en raison de la sortie des jeunes abeilles infestées. Pour le lot 5, l'infestation augmente de la première semaine jusqu'à la fin du traitement ce qui montre l'effet acaricide de l'huile continue mais faible. (Annexe 02)



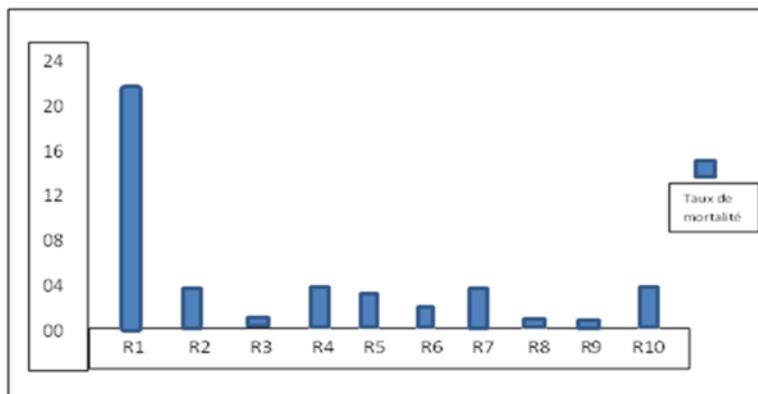
**Figure 32:** Comparaison entre le taux de mortalité des 05 lots

### 4.4. Pouvoir acaricide de l'huile essentielle

#### 4.4.1. Le pouvoir acaricide après un mois d'exposition au traitement de l'huile essentielle

La figure 33 montre que l'huile essentielle de la sauge à un effet toxique sur le *Varroa jacobsoni*, mais le meilleur résultat est obtenu surtout sur les ruches R1/D1 avec un taux de mortalité de 21.07% ; respectivement, Le traitement chimique effectué par l'Apivar a donné des résultats moyennes par rapport la plante utilisée (taux de mortalité de R7/AP : 3.13%) et ça la même chose pour les ruches : R2/D1, R10/D3 avec un taux de mortalité moyenne 2.7%

, 3.82% par la suite. Les ruches restes (R3/D2, R4/D2, R5/T, R6/T, R8/AP, R9/D3) a un taux de mortalité très faibles. (Annexe 0 3)

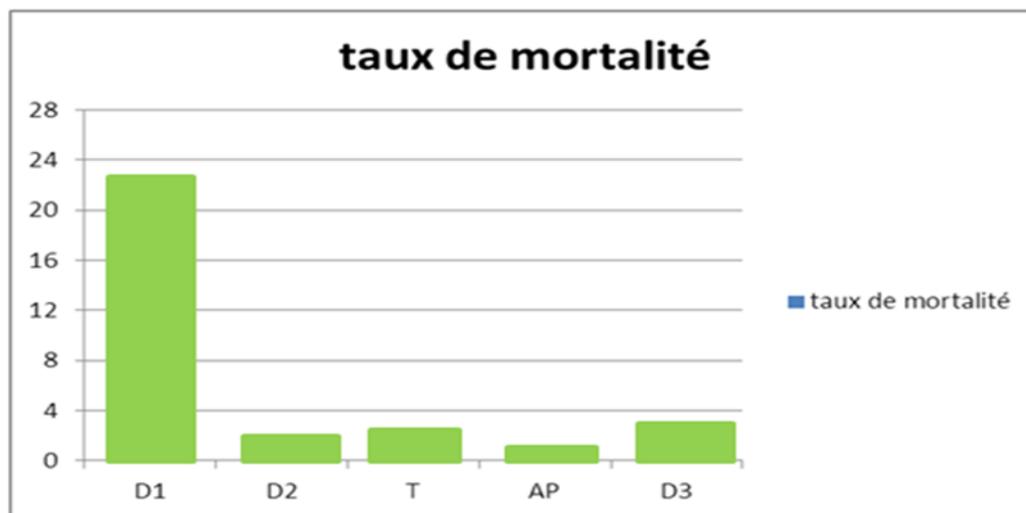


**Figure 33** : Evaluation des taux de mortalité des ruches traitées avec l'huile essentielle de la sauge et le produit chimique (Apivar).

#### 4.4.2. Evaluation des taux de mortalité dans les lots traités par l'huile essentielle et le produit chimique (Apivar)

Selon la figure 34, toutes les concentrations ont montré une activité acaricide, mais la dose D1 présente le taux de mortalité le plus élevé par rapport à D2 et D3.

Comparant au produit chimique, ce dernier a donné un taux de mortalité moins important mais n'est pas très loin de la doses D2 et D3. (Annexe 03)

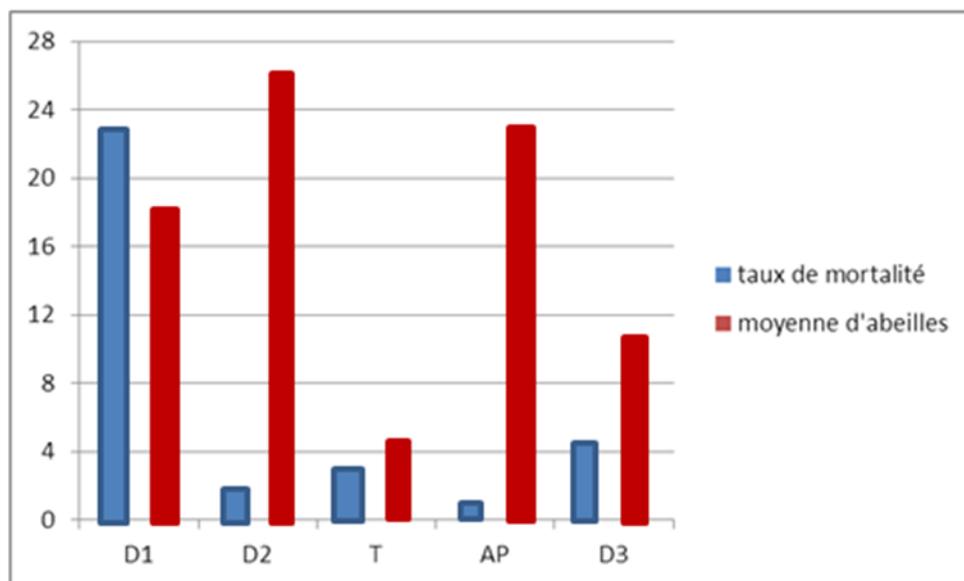


**Figure34** : Evolution de taux de mortalité des lots traités avec l'huile essentielle de la sauge et le produit chimique (Apivar).

#### 4.6. Comparaison entre les taux de mortalité de varroa et le pourcentage d'abeille après traitement par l'huile essentielle de la sauge

Selon la figure 34, nous remarquons une chute de varroa plus importante après traitement avec l'huile essentielle de la plante de la sauge pendant toute la période expérimentale. La toxicité de l'huile essentielle de la sauge dépasse celle du produit chimique de l'Apivar, tout en sachant que le taux d'abeille dans les ruches n'est pas similaire donc ne peut pas compare entre les lots mais ne peut comparer dans le même lot ou bien chaque lot toute seul.

On remarque que le lot 1 avoir un taux de mortalité le plus grand avec une moyenne d'abeilles élevé par rapport les autres lots qui avoir un taux de mortalité faible malgré leur moyenne d'abeille est importante. (Annexe 03).



**Figure 35** : Comparaison entre les taux de mortalité de varroa par rapport au taux d'abeilles après traitement par l'huile essentielle de la sauge.

L'huile essentielle extraite de la plante *S. officinalis*, provenant de l'Alger, extrait à partir des feuilles de la plante *S. officinalis* par la méthode d'hydrodistillation, nous a permis de récupérer un rendement en huile essentielle de 0.56%, qui est très faible peut être expliqué par l'influence de la région (origine) et les conditions climatiques et la méthode de d'extraction.

Nos résultats du traitement anti acarien ont révélé un effet acaricide des huiles essentielles de *S. officinalis* L. sur le *Varroa jacobsoni* parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Cette activité acaricide varie en fonction de la dose et la période d'exposition au traitement.

Après le traitement, nous avons constaté que le taux de mortalité effectué avec l'huile essentielle de la *S. officinalis* donné un meilleur résultat par la dose D1 : 5% qui correspond à 21.07%. Ce résultat est faible par rapport celui de **Benmoussa et al.,(2013)** qui a obtenu 48.7.20% par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.

Pour l'Apivar, nous avons constaté que le taux de mortalité a donné un résultat faible durant la période de traitement par la sauge qui correspond à 3.13%. Ce résultat est très lion de celui de **Rickli et al, (1991)** qui a obtenu 99%. Ce qui nous laisse penser qu'il est détérioré ou périmé.

### 5. Activité antimicrobienne

Les tests in vitro des activités antimicrobiennes d'huile essentielle des feuilles de la sauge spontanée vis-à-vis des six (06) souches pathogènes ont été évalués qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence des zones d'inhibition (est mesurée en mm). Les résultats sont représentés dans le Tableau ci-dessous :

**Tableau 16** : Diamètre des zones d'inhibition ZI du développement des différentes souches bactériennes traitées par les trois dilutions d'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Souche	Résultat	
	L'huile essentielle	Anti microbienne
<i>Escherichia collé</i>	très sensible	très sensible
<i>Staphylococcus Sp</i>	sensible	extrêmement sensible
<i>Streptococcus SP</i>	sensible	extrêmement sensible
<i>Fusarium</i>	extrêmement sensible	très sensible
<i>Aspergillus niger</i>	sensible	très sensible
<i>Aspergillus rivalz</i>	extrêmement sensible	extrêmement sensible

#### 5.1. Activité antibactérienne

Au regard de ces résultats, nous avons observé que l'huile essentielle ont inhibé la croissance de toutes les souches bactériennes, ces extraits exercent une activité antibactérienne dépendante de la dose. La plus forte activité obtenue est par *Escherichia collé* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 19 mm à D2 et D3.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sauge sur souches bactérienne pourrait s'expliquer par la présence de différents constituants, notamment :  $\alpha$ - thujone et 1,8-

## CHAPITRE 03 : RESULTATS ET DISCUSSION

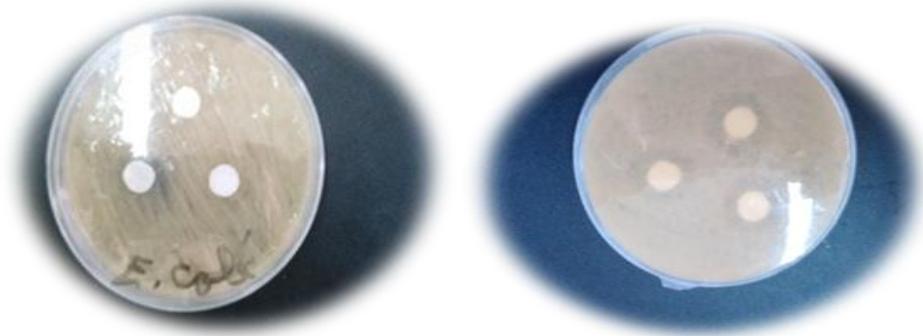
cinéole. Le mécanisme des effets antimicrobiens des huiles essentielles sont doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on peut citer

L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiens ce retenue à la rupture de la membrane ou bien la paroi des microorganismes.

Théoriquement, les constituants de l'huile essentielle pourraient exercer des effets antibactériens puisqu'ils sont des durs inhibiteurs in vitro.

La zone d'inhibition augmente considérablement avec l'augmentation de la concentration des extraits, ce qui a été constaté aussi par les auteurs ont révélé des zones d'inhibition pour les souches *Staphylococcus Sp* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (46 EC), ces zones sont augmentées de l'ordre de : (D1 :11 mm), (D2 :15.66 mm), (D3 : 16.33 mm) pour la première espèce et la deuxième espèce avoir les zones suivants : (D1 :17.66mm), (D2 :19mm), (D3 :19mm). Donc la charge du disque influe l'activité antimicrobienne. En confirmé dans notre étude pour le *Streptococcus SP* (ATB 81) une faible sensibilité aux trois dilutions D1, D2 et D3 avec une ZI de (13.66mm - 15mm). En outre, l'activité antimicrobienne de cette l'huile est difficile à relier à un composé spécifique en raison de leur complexité et de leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs (**Wendakoon CN, Sakaguchi M (1995)**) ont signalé qu'il existe une relation entre la composition chimique en éléments les plus abondants et l'activité antimicrobienne. (Annexe 06).

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne semblent vraisemblablement avec les terpènes, qui sont les composés principaux de la fraction, Ceci pourrait expliquer la modeste activité de nos l'huile essentielle. En conclusion, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle semble être directement liée à la diversité quantitative et/ou qualitative des composés qui sont présents dans ces extraits.



**Figure 36:** La zone d'inhibition de l'*Escherichia coli*

### 5.2. Activité antifongique

la zone d'inhibition constatée autour des disques imprégnés pour les différentes dilutions pour *Aspergillus niger* (Isolé du blé dur) est la même pour les trois dilutions (10.33 mm) de l'huile essentielle vis-à-vis d'*Aspergillus rivalz* (Isolé du blé dur) et *Fusarium* (Isolé de la tomate) qu'ont zones d'inhibition des (D1 : 21.66 mm, D2 : 24.33 mm, D3 : 22.33 mm) pour la première espèce et ( D1 : 29.66 mm, D2 : 27 mm, D3 : 29.66 mm) cette dernière a donné le meilleur résultat par rapport aux autres espèces. Ce qui indique que l'activité antifongique dépend aussi de plusieurs facteurs tels que le type de l'extraction, le milieu de culture. A la lumière de ces résultats on peut dire que l'huile essentielle de la sauge a un effet antifongique différent d'une espèce à une autre.

Les résultats obtenus pour ces composés sont comparables à ceux de l'eau physiologique, Tween et des disques vides comme contrôle négatif, qui n'ont montré aucune zone d'inhibition, et les antibiotiques « le Gentamycine et le fluconazole » utilisés comme des témoins positifs qu'ils ont des résultats meilleurs par rapport à l'huile essentielle : *Staphylococcus Sp* (22.33 mm), *Streptococcus Sp* (21 mm), mais c'est le contraire pour *Escherichia coli* (15.66 mm). (15, 19, 28.33) Pour les champignons avoir un meilleur résultat avec *Aspergillus niger* (19 mm) et *Aspergillus rivalz* (28.33 mm), mais le résultat avec le *Fusarium* (15 mm) qui est moins important par rapport à l'huile essentielle. (annexe 06)

Pour la différence observée entre les différentes répétitions, pourraient être dues aux variations de la répartition des différents composés dans l'huile essentielle des feuilles de la sauge.

Cependant nos résultats nous laissent deux explications significatives, qui sont : soit ces extraits à faible activité antimicrobiennes pourraient être dus aux conditions d'incubation ou de contamination au laboratoire à la suite de la manipulation. (Lee OH, Lee BY, 2010), où, à nos huiles qui ne renferment pas assez de composés à activité antimicrobienne ou bien à cause des faibles concentrations utilisées.

### 6. Activité antioxydant

#### 6.1. Piégeage de radicaux DPPH

Les résultats obtenus de piégeage de radicaux DPPH par l'extrait phénolique et l'acide ascorbique est présenté sur le tableau suivant

**Tableau 17** : Résultats du piégeage le radicale libre par DPPH

Dilutions	Concentrations (mg/ml)	I %	
		L'extrait phénolique	L'acide ascorbique
1	1.5	5.5 %	53 %
2	3	12 %	63 %
3	6	23 %	65 %
4	9	49 %	68 %
5	12	60 %	71 %
6	15	71 %	77 %

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH sont exprimés en pourcentage de l'activité anti-radicalaire, disent que l'acide ascorbique prises comme référence sont des anti- radicalaires, l'acide ascorbique est pris comme référence anti- radicalaires

Le résultat de pouvoir de piégeage du radical DPPH est très significativement dépendant de la concentration. L'acide ascorbique montre le pouvoir de piégeage le plus élevé même à faible concentration (C : 1.5 mg/ml : 53 %) et il augmente avec l'augmentation de la concentration jusqu'à inhibe (77% à C : 15mg/ml) par rapport au l'extrait phénolique qui présente une l'activité anti-radicalaire le plus élevée (71% à C : 15 mg/ ml).

### 6. 2.Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux libre DPPH

Ces résultats suggèrent que l'antioxydant synthétique de l'acide ascorbique inhibe mieux le radical DPPH que l'antioxydant naturel de l'extrait phénolique. Ceci est soutenu par les valeurs d'IC50. Une valeur plus faible d'IC50 (définie comme la concentration du composé capable d'inhiber 50% de tous les radicaux de DPPH) indique une activité antioxydant plus élevée. Les concentrations inhibitrices IC50 sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 18** : Représentation de la concentration inhibitrice IC50%

La solution	IC 50 (mg/ml)
L'extrait phénolique	9.5
L'acide ascorbique	1

Appartir de tableau on peut déterminer la valeur de IC 50 % pour l'extrait phénolique de la sauge qui est 9.5 mg/ml plus faible par rapport de l'acide ascorbique qui est 01 mg/ml. Ce qui explique le faible pouvoir antioxydant de notre plante.

La capacité des phénols totaux à piéger les radicaux libres s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires.

Les résultats de test de piégeage du radical libre DPPH suggèrent que les composants qui se trouvent dans l'extrait sont capables de piéger les radicaux libres par l'intermédiaire de donation d'électrons d'hydrogène.

Ce qui indique qu'ils ne peuvent être des agents thérapeutiques antioxydants utiles pour le traitement des dommages pathologiques liés aux radicaux n'est dans la conservation des produits alimentaires et des produits cosmétiques. Cette plante est connue pour son pouvoir antalgique antidouleur et spasmes.

### 7. Analyse statistique

#### 7.1. L'analyse statistique de la variance par le test ANOVA de l'effet des huiles essentielles sur la régulation des populations du varroa parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*

Cette analyse permet de mettre en évidence l'effet de facteur huile sur la mortalité du varroa

## CHAPITRE 03 : RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 19** : Analyse de la variance par le test ANOVA sur la mortalité de varroa après traitement par l'huile essentielle de la sauge

variations	SCE	DDL	CM	F OBS
résiduelle	30.2003	27	1.1185	
factorielle	396.2073	2	198.1037	177.1155
total	426.4076	29	14.7037	

L'analyse de la variance montre que, le facteur l'huile est un effet hautement significatif ( $F= 177.1155$ ,  $DDL= 2$ ,  $p=0,000$ ,  $p>5\%$ ) sur la mortalité de varroa

Les individus mis en contact avec les différentes doses de l'huile essentielle de la sauge ont été affectés de manière significative ce qui s'est traduit par la diminution de la durée de leur vie en comparaison des individus non traités.

Nos résultats du traitement anti acarien ont révélé un effet d'activité acaricide des huiles essentielles de *Salvia officinalis L.* sur le *Varroa jacobsoni* parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Cette activité acaricide varie en fonction de la dose et la période d'exposition au traitement.

Après le traitement, nous avons constaté que le taux de mortalité effectué avec l'huile essentielle de la *Salvia officinalis* donné un meilleur résultat par la dose D1 : 5% qui correspond à 21.07%. Ce résultat est faible celui de **Benmoussa et al., (2013)** qui a obtenu 48.7.20% par l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.

Pour l'Apivar, nous avons constaté que le taux de mortalité a donné un résultat faible durant la période de traitement par la sauge qui correspond à 3.13%. Ce résultat est très lion de celui de **Rickli et al, (1991)** qui a obtenu 99%.



CONCLUSION

## Conclusion

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'effet acaricide de la sauge de l'espèce *Salvia officinalis* L. afin de la valoriser en lutte biologique et l'effet antimicrobien et antioxydant afin de la valoriser en phytothérapie.

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

- L'huile essentielle de la sauge n'est pas toxique pour les abeilles à des concentrations faibles (à revoir selon vos résultats)
- Au début de l'expérimentation, le taux de mortalité avant traitement était compris entre 0.73% et 8,28%. Cette variation est liée au nombre d'abeilles dans le couvain.
- Les traitements effectués ont montré une différence dans l'effet acaricide de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* qui a donné un taux de mortalité meilleur 21.07% par la dose D1 : 5%, par contre le traitement chimique effectué par l'Apivar (0.33 %) a donné un résultat proche des autres doses restantes D2 :4.96 % et D3 :4.96 %.
- Les témoins ont présentés un taux de mortalité moyennement faible par rapport à celui des lots traités car ces derniers renferment les ruches les moins denses et les moins infestées.

En fin de compte, le traitement à base d'huile essentielle de la sauge s'est révélé efficace dans nos conditions d'expérimentation, et sans effet néfaste sur le développement des colonies de varroa. Ce qui nous laisse dire qu'elle peut être proposée comme un bio-acaricide contre la varroase, puis que est un traitement naturel et simple.

L'étude des caractéristiques physiques et chimiques de l'huile essentielle peut contribuer à la valorisation de la sauge Algérienne en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques relative à leur teneur en métabolites primaires et secondaires (les huiles essentielles et les polyphénols).

Ces analyses physicochimiques de l'huile essentielle de la sauge révèle une acidité de 01.9 %), Indice de réfraction de (1.471) et une teneur en eau de 07.93 %. Le rendement de l'huile essentielle de la sauge identifié a était estimé à 0.56 %. Cela peut être attribué au type d'extraction, à la variété et aux conditions climatiques.

L'analyse de la composition des extraits méthanoliques en métabolites secondaires, révèle une teneur en polyphénols totaux de (15 mg/ml) et un rendement estimé à 1.5 %.

Le test de piégeage du radical DPPH a montré une forte capacité inhibitrice des extraits méthanoliques qui est proche de celle de l'acide ascorbique est liée à sa forte teneur en polyphénols :

- Aux concentrations utilisées (15 mg/ml), l'extrait présente une activité antiradicalaire la plus importante égale à 71 % par rapport à l'acide ascorbique 77 %.
- L'inhibition du radical DPPH exprimé en concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC<sub>50</sub>) indique que les extraits méthanoliques ont un IC<sub>50</sub>=09,05mg/ml par rapport à l'acide ascorbique IC<sub>50</sub> = 1 mg/ ml.

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur six (06) souches: trois (03) souches bactériennes et trois (03) souches fongiques, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats biologiques obtenus tout au long de ce test ont montré que : l'huile essentielle de la sauge présente une activité antibactérienne contre *Staphylococcus Sp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Sp*, le plus actif avec *Escherichia coli* à une zone d'inhibition de 19 mm à la D3 : 0.4 ml. Toutes les dilutions ont exercé une activité antifongique sur les souches fongiques. On peut déduire que nos extraits sont actifs sur les souches fongiques testées (*Aspergillus niger* et *Aspergillus nivalis* et *Fusarium*) qui varient de 21.66 mm et 29.66 mm pour les deux dernières souches et de 10.33 mm pour la première espèce.

En perspective, nous proposons un complément de travail de recherche qui peut nous renseigner sur l'importance de cette plante en lutte biologique et en phytothérapie par des études selon:

- La Région (Algérie).
- Les organes : les racines (Son odeur est fortement balsamique, de saveur aromatique chaude, amère et astringente) selon la recherche bibliographique.
- L'état cultivé ou non
- Autre Espèces : plus riche en biomolécules bioactives tel que le 1,8- cineole.



ANNEXES

---

## **Instruments et réactifs d'expérimentation**

### **Matérielle non biologique**

#### **Appairage**

- Etuve (Nuve EN 500) : 37°C, 25°C.
- Rota vapeur
- Réfrigérateur
- Microscope photonique binoculaire (Motic BA 200)
- Spectrophotométrie UV-visible (Shimadzu UV-1601)
- Agitateur magnétique
- Bain marie (Memmert)
- Broyeur
- Bec bunzen
- Balance
- Chromatographe phase gazeuse .
- Refractometre
- Extraction de type clevenger.

#### **Verrerie**

- Pipettes graduées: 1, 5, 10, 25ml.
- Ballons: 250, 500 ml.
- Erlen Myers: 150ml ; 250ml.
- Fioles jaugées: 10ml;20ml,
- Lames et lamelles.
- Plaque chauffante

#### **Colorants et produits chimiques divers**

- Vert de méthyle.
- Hydroxyde de potassium (KOH)
- Hypochlorite de sodium  $\text{Na}(\text{ClO})_2$ : Eau de javel du commerce.
- Méthanol.
- Réactif de Fehling (0.5ml de réactif A + 0.5ml de réactif B, mélange extemporané)
- Réactif de MAYER
- Rouge Congo (Rouge Congo:1g,  $\text{NH}_4\text{OH}$ :100ml, Eau distillée qsp:1000ml)
- DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle).
- Ethanol 80, absolu.
- Vitamine C
- Eau physiologique
- Eau distillé
- Tween
- Graisse

## L'évaluation de mortalité de varroas dans les ruches traitées par l'H.E de la sauge

**Tableau A :** Détermination de nombre des abeilles

numéro de ruche	cadre vide	cadre avec les cires gaufrées	cadre complet	ruche vide	ruche complet	différence (Kg)	Différence en gramme	Nombre des abeilles
1	0.395	0.280	1.565	17.905	19.425	1.52	1520	15200
2	0.395	0.280	1.565	17.905	19.180	1.275	1275	12750
3	0.395	0.280	1.565	17.435	17.435	0	0	0
4	0.395	0.280	1.565	17.905	21.935	4.03	4030	40300
5	0.395	0.280	1.565	17.905	19.055	1.15	1150	11500
6	0.395	0.280	1.565	17.905	19.735	1.83	1830	18300
7	0.395	0.280	1.565	17.905	21.405	3.5	3500	35000
8	0.395	0.280	1.565	17.905	17.905	0	0	0
9	0.395	0.280	1.565	17.905	17.905	0	0	0
10	0.395	0.280	1.565	17.905	19.700	1.795	1795	17950
Somme	3.95	2.8	15.65	178.58	193.68	15.1	15100	151000
Moyenne	0.395	0.28	1.565	17.858	19.368	1.51	1510	15100

**Tableau B :** Détermination de nombre de varroa morts avant le traitement

Numéro de la ruche	13/11/2016	20/11/2016	27/11/2016	04/12/2016
1	14	156	114	138
2	45	19	39	11
3	10	38	20	29
4	42	34	38	17
5	71	100	20	37
6	137	40	31	01
7	21	190	133	41
8	127	102	106	98
9	338	110	94	88
10	320	74	47	61
Somme	1125	857	642	521
moyenne	112.5	85.7	64.2	52.1

**Tableau C** : Détermination de nombre de varroa morts au moment le traitement

Numéro de la ruche	11/12/2016	18/12/2016	25/12/2016	02/01/2017	Numéro de lot	dose
1	288	281	283	300	1	concentraionD1 : 5 %
2	24	23	10	78		
3	15	16	15	10	2	ConcentraionD2 : 15 %
4	75	72	21	93		
5	20	20	9	41	3	Témoin
6	0	0	15	7		
7	116	106	50	130	4	Chimique
8	16	16	17	0		
9	41	8	30	0	5	ConcentraionD3 : 20 %
10	44	34	56	100		
Somme	639	534	506	759		
Moyenne	63.9	53.4	50.6	75.9		

**Tableau D** : Comparaison entre les lots

Numéro de lot	11/12/2016	18/12/2016	25/12/2016	02/01/2017
1	312	304	293	378
2	90	88	96	103
3	20	20	24	48
4	132	112	67	130
5	85	42	86	100

**Tableau E** : Détermination de nombre de varroa morts après le traitement

Numéro de ruche	08/01/2017	15/01/2017	22/01/2017	29/01/2017
1	223	150	95	25
2	9	5	3	1
3	47	15	8	5
4	56	25	19	6
5	24	16	11	3
6	3	2	2	0
7	85	67	21	7
8	0	0	0	0
9	0	0	0	0
10	43	18	7	2
SOMME	490	298	166	49
MOYENNE	49	29.8	16.6	4.9

**Tableau F**: détermination de taux d'infestation de varroa après le traitement

Les ruches	A	B	C	P	T %
1	393	13.55	1219.5	15200	8.02
2	18	0.62	55.8	12750	0.43
3	75	2.58	232.2	0	0
4	106	3.65	328.5	40300	0.81
5	54	1.86	167.4	11500	1.45
6	07	0.24	21.6	18300	0.11
7	180	6.20	558	35000	1.59
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	70	2.41	216.9	17950	1.2

**Tableau G** : les différents taux d'infestations

Les ruches	T % initiale	T % traitement	T % final	Moyenne générale
1	6.03	21.07	8.02	
2	2.18	2.71	0.43	
3	4.21	4.96	1.94	
4	0.73	1.76	0.81	
5	5.89	1.95	1.45	
6	3.50	0.33	0.11	
7	2.89	3.13	1.59	
8	4.21	4.96	1.94	
9	4.21	4.96	1.94	
10	8.28	3.82	1.20	
Ecart type ± moyenne	4.21 ± 2.03	4.96 ± 5.56	1.94 ± 2.11	3.70

**Le pouvoir acaricide des huiles essentielles après un mois d'exposition au traitement**

**Tableau H** : Le pouvoir acaricide après un mois d'exposition au traitement de l'huile essentielle de la sauge.

Ruche	Taux de mortalité %	%abeille
1	21.07	10.06
2	2.71	8.44
3	0	0
4	1.76	26.68
5	1.95	7.61
6	0.33	12.11
7	3.13	23.17
8	0	0
9	0	0
10	3.82	11.88

**Tableau I** : Evaluation des taux de mortalité dans les lots traités avec l'huile essentielle de La sauge et le produit chimique (Apivar).

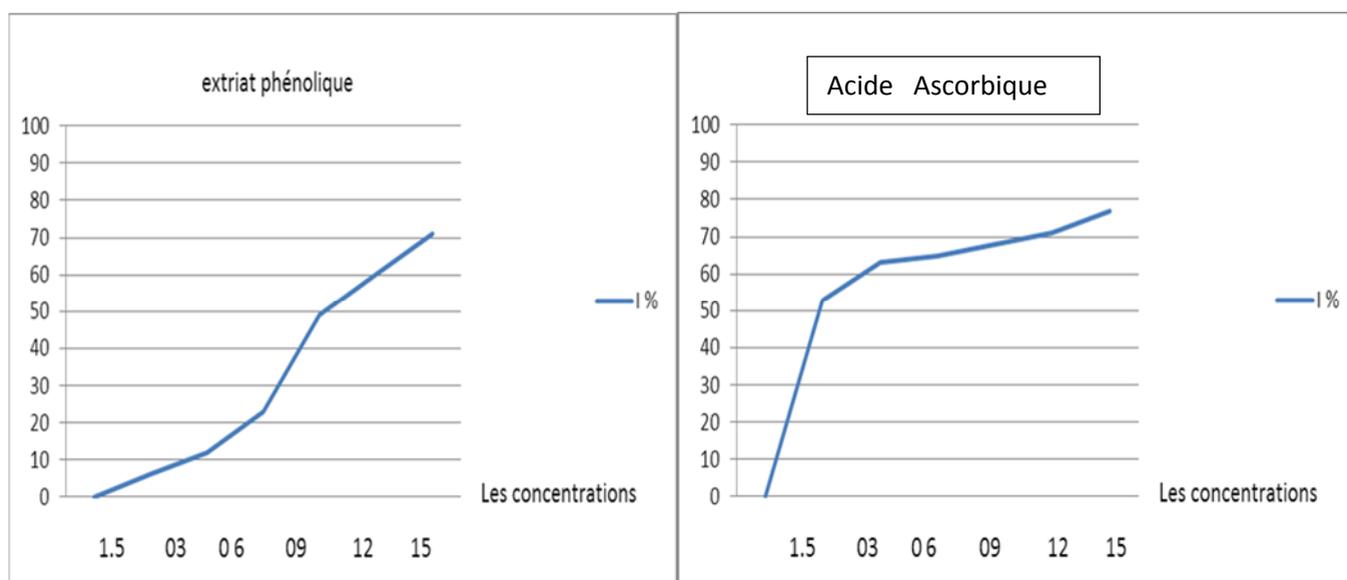
Les lots	Taux de mortalité %	Moyen d'abeille %
D1	23.78	18.5
D2	1.76	26.68
Té	2.28	19.72
AP	0.33	23.17
D3	3.82	11.88

### Activité antioxydant

**Tableau J:** représentation de la concentration de piégeage des radicaux libre DPPH

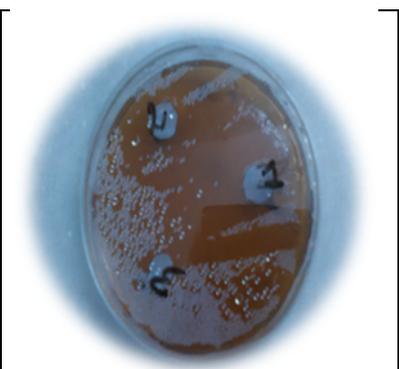
Dilutions	Concentrations (mg/ml)	L'extrait phénolique	L'acide ascorbique
1	1.5	5.5 %	53 %
2	3	12 %	63 %
3	6	23 %	65 %
4	9	49 %	68 %
5	12	60 %	71 %
6	15	71 %	77 %

Les courbes voisines de tableau :



**Figure :** les courbes représentent la concentration de piégeage de radical libre de DPPH

**Tableau K : résultats de l'activité antimicrobienne**

Les zones d'inhibitions			
	<i>Escherichia collé</i>	<i>staphylococcus</i>	<i>Streptocoques</i>
			
L'effet de l'antibactérienne Gentaxine			
			
	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus rivalz</i>
			

	CMI	L'effet antifongique de phloconazol
--	-----	-------------------------------------

**Tableau L:** Règle générale de diamètre de la ZI

Diamètre de la ZI	D = 09 mm	10 < D < 14 mm	15 < D < 19 mm	D > 20 mm
Résultat	résistante	sensible	très sensible	extrêmement sensible

**Tableau M:** Diamètre des zones d'inhibition ZI du développement des différentes souches bactériennes traitées par les trois dilutions d'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

Souche	ZI (mm)									Anti microbienne
	Dilutions			Témoin			CMI			
	D1	D2	D3	DV	T	EP	D1	D2	D3	
EC	17.66	19	19	0	0	0	-	-	-	15.66
Sta	11	15.66	16.33	0	0	0	+++	++	+	22.33
Str	16.33	13.66	15	0	0	0	+++	++	+	21
Fus	29.66	27	29.66	0	0	0	++	++	++	15
A N	10.33	10.33	10.33	0	0	0	+	+	+	19
AR	21.66	24.33	22.33	0	0	0	+++	+++	+++	28.33

Le diamètre des disques (09mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition :

D : dilution

R : répétition

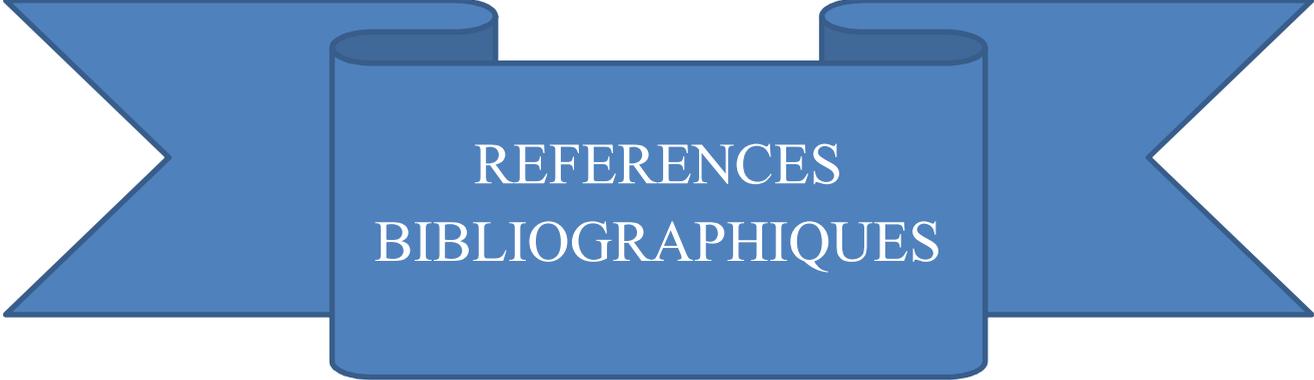
DV : disque vide

EP : l'eau physiologique

T : Tween

- : aucun croissance

+ : croissance



REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

### Référence bibliographiques :

1. **A. Regard, 1981** : Apiculture et intensive en rucher sédentaire. Ed: j.-b. bailliére 24, 129p.
2. **A. Regard, Dr Douhet, L.Adam., 1977** : l'abeille de A à Z : Embryologie - anatomie : 32 blanche 2 ème Edition 1977 p :30.
3. **Abed T., Duccos J., 1993** : Détermination de la DL50 de l'amitraz et de coumaphos sur le *Varroa jacobsoni* Oud au moyen acaricide anti varroa ; revue Apidologie. Vol.24 ; n°2. PP121-128.
4. **Adam, 1964 : Adam F., 1964** : A la recherche des meilleurs lignées d'abeille » article de journal La Belgique Apicole n°28.PP287-292. In <http://www.pedigreeapis.org>.
5. **AFNOR., 1992** : Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles. Paris.
6. **AFNOR, 1999** : Normes internationales de microbiologie. Directives générales pour la recherche et le dénombrement des microorganismes dans les aliments, vol.8B.
7. **AFSSAP ; 2008** : «recommandation relative aux critère de qualité des huiles essentielles » 11 P.
8. **Alexandre H., Duval., 1995** : La varroase des Abeilles, University des Macdonald campus, Agro Bio 370.08, canada.
9. **AMELLAL M., ACHOURI S., 1999** : contribution à l'étude de l'huile essentielle de la sauge (*Salvia officinalis*). Thèse d'une ingénieure d'Agronomie de l'INA, 30 p.
10. **Arcaro D., 2011** : Le monde d'abeille, article d'un journal français science et environnement 29 P. in <http://www.scuole.vda.it>
11. **Auger J and Thibout E., 2002**: Induced response of the leek to attacks of the leek moth. Consequences on host foraging behaviour of the parasitoid, *Diadromus pulchellus*. 8th European Workshop on Insect Parasitoid. Tours, France.
12. **Bahorun, T. Substances naturelles actives**: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle". Edition Mauritius. (1997).133p.
13. **Baker D., 1984**: The nymphale stage and mal of *Varroa jacobsoni* oudeman parasite of honey bee; revue vol 10 n°02.PP 75-80. in <http://cat.inist.fr>
14. **Belaïd M. et Boumdji S., 2009** : Effet du varroa destructor sur la morpholométrie alaire et sur la composition de système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis*

*mellifera intermissa* ; Résume ; Labanaise science journal vol 11 n°01 ; 84 P. in <http://www.cnrs.edu.lb>

- 15. Beldjoudi Salah et Benaldjia Mohamed., 2006** : Situation de l'apiculture en Algérie  
Enquête sur le profil de l'apiculteur. Mem. Docteur vétérinaire E.N.V. Alger; 45p.
- 16. Benmoussa k. 2007** : Effet de traitement par fumogation de thym (*thymus vulgaris*)  
sur le varroa destructor agent de la varroase des abeilles. Edition, Laboratoire de  
biologie végétale, Université de khemis Miliana, Route de Theniet El had, Algérie.
- 17. Berenice dethier., 2009-2010** : Contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de  
l'ail. Travail de fin d'études présente en vue de l'obtention du diplôme de master  
bioingénieur en chimie et bio-industries. Université de liège. France.
- 18. Berkani M.E., 1985** : comparaison de deux type de ruches Dadant et Langstroth dans  
le littoral algérois .Thèse Magister INA El Harrach 141 p.
- 19. Berkani ML., 2007** : Etude des paramètres de développement de l'apiculture  
Algérienne. Thèse de doctorat d'état. INA El-Harrach Alger. 233P
- 20. BIANCHINI F., CORBETTA F., 1975** : Atlas des plantes médicinales, Edit.  
Nathan. Paris, 186 p.
- 21. BIANCHINI F., CORBETTA F., 1975** : Atlas des plantes médicinales, Edit. F.  
Nathan, Paris, 186 P.
- 22. BIRI, 2010** ; BIRI M, 2010 : Toute savoir sur les abeilles et l'apiculture, Edition de  
Vecchi, Paris, p 13–101. Benbouali M., 2006 : Valorisation des extraits des plantes  
aromatique et médicinal de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*; Mémoire de  
magister en génie des procédés, option : Génie chimique ; 01 P.
- 23. BOSSAR R., CUISANCE P., 1989** : Arbres et arbustes d'ornement des régions  
tempérées et méditerranéennes, Edit. Lavoisier Paris 511p.
- 24. Bouguera A., Boukallel A., 1995** : influence de varroa sur les caractères  
biométriques de l'abeille; INA El Harrache – Aleger ; thèse 90 p.
- 25. Bozzinie A., 1979** : La pollinisation par les insectes et la production agricole. Pp. 47-  
68.
- 26. BRUNEAU, 2004** : BRUNEAU E, 2004 : Les produits de la ruche.
- 27. Bruneton Jean., 1999** : «pharmacognosie, Phytothérapie, plantes médicinales. Paris  
:Tec 08p», Cachan : EM inter, 1120p.
- 28. Cecchini.T., 2004** : Encyclopédie des plantes médicinales vecchi S.a, paris.p36-37

29. **Charrière J.D. et Imdorf A., 1998** : Méthode de lutte alternative contre Varroa. Brochure FAM 1-8.
30. **CHAUMETON H., 1981** : Les plantes aromatiques, comment les reconnaître. Ed Paris, Solar.
31. **Choquet, J. (1992)** : L'apiculture simplifiée, Maison Rustique.
32. **Clément H., 2006** : L'abeille sentinelle l'environnement; article n° 2 – Abeille
33. **Colin M E., Ducis J. de Lahitte, Larribau E., Boué T., 1989** : Activité des huiles essentielles des Labiées sur *Ascropheara apis* et traitement d'un ruche ; INRA - Zoologie et Apidologi; P225. In <http://ressources.ciheam.org>
34. **Colin M E., Goodman R., 2001**: Varroa; 04 P.
35. **COLIN M.E et MEDORI P., 1982** : les abeilles. Comment les choisir et les protéger de leurs ennemis. Achevé d'imprimer en septembre 1982 sur les presses de jacques enfer paris, p5.
36. **Colin M.E., 1982** : La varroase Rev.sci.tech.off.int.Epiz., 1982,1(4),1177-1189.
37. **Colin ME., Richard D., Fourcassié V., Belzunces LP., 1990**: Attraction of *Varroa jacobsoni*, parasite of *Apis mellifera* by electric charges. J. Insect Physiol; 38, 111-117.
38. **CUVELIER M., BERSET C., RICHARD B., 1994** : Activité biologique de la sauge *Salvia officinalis*, J. Agric, Food chem ., 42 p.
39. **Daif Nadia., 1993**:«L'ail, *Allium savitum* l. (liliacées) de la tradition à ses progressions en thérapeutiques moderne» Th.pharm : Nancy 1,12-104p.
40. **Degryse A C., Delpla I., Voinier M A., 2008** : Risque et bénéfices possible des huiles essentielles ; thèse d'ingénieur du Génie sanitaire 01 P. in <http://fulltext.bdsp.ehesp.fr>
41. **Delaveau pierre.,1982** : «*Allium Savitum* l. (liliacées) Actuel. Pharm»,184-67p
42. **DIRECTIE 2001** : DIRECTIVE 2001/ 110/ CE du 20/12/2001.
43. **Douhet et al, 1977** : l'abeille de A à Z. embryologie, anatomie 88p.
44. **Duraffourd C., lapraz J.C et Valnet J., 1982** : ABC de phytothérapie dans les maladies infectieuses-Ed Michel Grancher.
45. **FAQ; 2009** : Fédération des Apiculteurs du Québec. In [www. apiculteurs du Québec .com](http://www.apiculteurs du Québec.com).

46. **FELLAH S., ROMDHANE M., ABDERRABA M., 2006** : Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*, cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, journal de la Société Algérienne de la chimie 193-202 p.
47. **Fernandez et Coineau, 2002**. Varroa, Tueur d'abeilles, bien le connaître pour mieux le combattre Anglet : Atlantica, 237p.
48. **France 111-157. Faucon, J P(1992)** : Précis de pathologie, connaître et traiter les maladies des abeilles. Edition CNEVA 183 pp.
49. **Garnier Gabriel, Bezanger-beauquesne Lucienne, Debraux Germaine., 2009** : « Ressources médicinales de la flore française 1 » Paris : vigot, 1961-1511p.
50. **Garnier., 1961** : « Rôle de laboratoire dans l'antibiothérapie », Encycl.Med.Chir-Paris ,08p.
51. **Girre Loïc., 1980** : « Connaître les plantes médicinales, Rennes : Ouest France » - 333p.
52. **Grobov O. F., 1979** : « la variabilité géographique des dimensions du scutum dorsal des femelle de *V.jacobsoni* oudmant ». 27th Int. Apic.congr. Athènes Apimondia, pp 381-382.
53. **Guillot L., 2009** : Les abeilles piquées au vif; 05 P.
54. **Hanley A., Duval J., 1995** : La varroase des abeilles. Projet pour l'agriculture écologique. In <http://www.eap.mcgill.ca/agrobio/ab370-08>
55. **Harouz C, Zakai H, Cherifi A., 2015**: Etude de l'efficacité acaricide de deux plantes : le romarin et l'armoise sur varroa destructor parasite de l'abeille locale, Editeur : Université de Bouira ; [www.Univ-bouira.dz](http://www.Univ-bouira.dz).Date de publication 20.mar.2015
56. **Harun Y., 2007** : Le miracle de l'abeille ; Livre 01 P. in <http://harunyahya.fr>.
57. **Houle E., 2004** : Les méthodes physiques en lutte intégrées contre la varroase ; journée de champêtre en apiculture ; 04-09 P. in <http://www.agrireseau.qc.ca>
58. **Hussein 2001** : HUSSEIN.M.H., 2001 : l'apiculture en Afrique. Les pays du nord, de l'est et de l'ouest du continent. Apiacta 1 : p 43– 48.
59. **Imdorf A., Ruoff K., Fluri P., 2010**: Développement des colonies chez abeille mellifera ; Revue ALP forum n° 68 ; 23 P. In <http://www.agroscope.admin.ch>
60. **Iserni P., 2001** : "Encyclopédie des plantes médicinales". Edition Larousse. Paris. (2001). 110p.

- 61. ISO 6887-1, 1999** : Microbiologie des aliments : Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.
- 62. ISO 7954, 1988** : Microbiologie : Directives générales pour le dénombrement des levures et moisissures. Technique par comptage des colonies à 25°C.
- 63. Jasse P., 1994.** L'abeille et la santé de l'Homme, Article de journal Belgique apicole ; 115P.in <http://www.beesfordevelopment.org>
- 64. Jean Louveaux., 1985.** Les abeilles et leur élevage. Ed. OPIDA, 13 -25 29 43 45, 226p
- 65. Jean-Prost Paul, Medori Paul et le Conte Yyve., 2005** : Apiculture. connaître l'abeille-conduire le rucher 7e édition paris, p20-21
- 66. Joligar R., 1996** : L'abeille; éd 01 ; 3 P.
- 67. Jorek.N., 1983** : Epices et plantes aromatiques, Hatier, Paris. P58.
- 68. karl pfefferle., 1984** : l'apiculture avec la ruche à hausses multiplies et la varroase ;6e édition revue et amplifiée, traduit en français par J.MOSBEUX, p140.
- 69. Kralj J., Fuchs.S., 2006:** Parasitic Varroa destructor mites influence flight duration and homing ability of infested Apis mellifera foragers. Apidologie, 37, 5, 577–587.
- 70. Kruas et al., 1998** : La température à l'intérieur du nid de couvain influence fortement la croissance, Thèse Ing. Agron. ITA Mostaganem.
- 71. Lasram M., 1975:** Note sur les abeilles et la pollinisation. 2ème Ed. Paris. 135.
- 72. Lawrence B.M., 1990:** “Progress in essential oils: Myrtle oil”. Perfumer and flavorist. Vol 15. (1990). p: 65-66.
- 73. Lawrence B.M., 1996:** “Progress in essential oils: Myrtle oil”. Perfumer and flavorist. Vol 21. (1996). p: 57-58.
- 74. Leconte .Y, et Arnold G, 1991** : Pathologie : la varroase. Bull.tech.Apic. 1425p.
- 75. Lekhal M., 2011** : Baisse de la production nationale de miel en 2012, article de journal d'El Moudjahide. In [www. El Moudjahide.com](http://www.ElMoudjahide.com)
- 76. Liebig G., 2001:** How many Varroa mites can be tolerated by a honey? Colony; Apidologie 32, 482-484 Limoge. 142 pp

- 77. Mackowiak Claire., 2009** : Le déclin de l'abeille domestique *Apis mellifera* en France. Thèse pour obtenir le diplôme l'état de docteur en pharmacie, universités Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, France.
- 78. Martin, S.J. (2004)**: Acaricid (pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. *Bee World* 4, (85), 67-69.
- 79. Mazoyer.M., 2002**: Larousse agricole, 4ème édition, Paris.p30.
- 80. MEMMOTT J., 1999**: The structure of a plant-pollinator food web. *Ed. Ecology Letters* 2. 280p.
- 81. MOCKUTE D., NIVINSKIENE O., BEMOTIENE G., BUTKENI R., 2003**: The cisthujone chemotype of *Salvia officinalis L.* essentially oil. *Ed Chemija (Vilnius)*.
- 82. Naquet N V., 2008** : Le blog vétérinaire consacré à l'apiculture et la pathologie apicole ; PP 534-539.
- 83. Odile M., 2009** : Evaluation de l'exposition au risque chimique lors de la lutte contre le varroa en apiculture ; Thèse de medecin agricole; PP12-13. In <http://www.inma.fr>
- 84. Olesen J., Bascompte J., Dupont Y et Jordano P., 2007**: The modularity of pollination networks.*Ed. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104p.
- 85. Ouyahia M., 2003** : Miel d'abeille; article de journal de Soir, in
- 86. Padma S Vankar. (2004)**: Essential Oils and Fragrances from Natural Sources. P 31-34.
- 87. Pibiri M C, 2006** : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle; Thèse d'ingénieure en chimie ; 11 P. in <http://biblion.epfl.ch>.
- 88. Pierre Jean-Prost., 2005** : Apiculture : connaître l'abeille - conduire le rucher ; 7ème Ed : Tec & doc; pp : 43-69; 217-241, 683P.
- 89. Racal R., 2012** : Le varroa menace. *Journal quotidien d'information et d'actualité*, P16
- 90. Ravazzi G., 2007**. Abeille et apiculture. Nouvelle édition-Editions de Vecchi S.A.- Paris, 15-24 140 151
- 91. Rémy Vandame, 1996** : Importance de l'hybridation de l'hôte dans la tolérance à un parasite. Cas de l'acararien parasite *Varroa jacobsoni* chez les races d'abeilles *Apis*

- mellifera européenne et africanisée, en climat tropical humide du Mexique. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard - Lyon 1. 114p.
- 92. RICHTER. G., 1993** : Métabolismes des végétales physiologies et biochimie. Edit. Tec and Doc, Paris. 526pages.
- 93. ROBAUX P., 1986** : La lutte contre *Varroa jacobsoni*, son avenir ; Abeille de France ; 711. PP : 543-544.
- 94. ROBAUX P., 1986** : Varroa et la Varroase ; éd : oppida; 282 P.
- 95. ROSEKRANZ P. et al., 2006**: Population dynamics of. Honey bee colonies and verroa tolerance: acomparaison between Uruguay and Germany. In proceedings 7th Encontro sodre Abelhas, Brazil.
- 96. SALLE. J L., 1991** : Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Edit. Frison-Roche, Paris. 167pages
- 97. SANFORD, 2001**: Introduction, spread and economic impact of Varroa mite in North America. In: Mites of Honey Bee. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons. pp.149-162
- 98. SEBASTIEN, Lucien, Paul Wendling, 2012** : Varroa Destructor (Anderson et Trueman, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*, 1758.Ecole nationale vétérinaire d'Alfort ; thèse 190p .
- 99. Semen E., Hiziroglu S. (2005)**: Production, Yield and Derivatives of Volatile Oils from Eastern Redcedar(*Juniperus Virginiana L.*) . American Journal of Environmental Sciences; 1 (2): 133-138.
- 100.** Sentinelle ; 06 P. In <http://www.abeillesentinelle.net>
- 101.** Simoneau A., 1990 : Varroase ; Fédération du Québec; vol 22, n°02 ; 02 P.in <http://www.agrireseau.qc.ca>
- 102.** Sousa EMBD., Chiavone –Filho O., Moreno MT., Silva DN., Marques M.O.M.,Meireles MAA. (2002): Experimental Results for extraction of essential oil from *Lippia sidoides* cham. Using pressurised carbon dioxide. Brazilian Journal of Chemical Engineering; 19(02): 229-241.
- 103.** SPIVAK, 1999: SPIVAK M, 1999: Dynamics and control of varroa parasitisme on *Apis* apidologie 30 p 81–83.
- 104.** Teixeira da Silva: J.A. “Mining the essential oils of the Anthernideae”. African journal of biotechnology. Vol 3. (2004). p: 706-720.

105. THURZOVA L., 1981 : les plantes + santé qui poussent autre de nous, Edit. Bordas, Paris, 208 p.
106. TOUKER A O., MACIARELLO M J., ESSENT J., 1990: Oil Res. Ed institute of chemistry, Gostauto 9, Vilnius, Lithuania.
107. TURNER E., 2007 : le peuple des abeille.Hubert Reeves. Rustica éd., 2007, 4,5.6, 223p.
108. VANIER P et TRUDEAU C, 2006 : Encyclopédie des aliments, sauge. Ed Institut des Biologie.
109. VENKATACHALAM K. V., KJONAAS R., CROTEAU R., 1984 : Plant physiol. Ed. Institute of Biological Chemistry and Biochemistry, Washington Star University, Pullman, Washington.
110. VON FRISCH, 2011: VON FRISCH K, 2011: Vie et Moens des abeilles, Edition ALBIN MICHEL, Paris, p 21–66.
111. WENDLING, 2012: WENDLING S, 2012. Varroa destructor.
112. WICHTL M., ANTON R., 2003 : Plantes thérapeutique, tradition pratique officinale science et thérapeutique, 2<sup>ème</sup> édition, Ed TEC et DOC.
113. WILLEM J.P., 2004 : Les huiles essentielles, médecine d’avenir. P 318.
114. WINSTON M., 1993 : La biologie de l’abeille. Ed. Frison-Roche/Nauwelaerts. 276p.
115. WSTONI M.L., 1993 : La biologie de l’abeille. traduit de l’anglais par g. lambermont. Edition frison roche, Paris.
116. WOLFGANG, 2008: WOLFGANG H, 2008 ; 350 plantes médicinales Edition de Delachaux et Néslé, Paris. P 152.
117. YAKHLEF.G (2010) : Evaluation de l’activité antibactérienne de *Thymus vulgaris* et de *Lauris nobilis*. Plantes utilisées en médecine traditionnelle. August 2011, Volume 9, Issue 4, pp 209-218.