

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA  
FACULTÉ DES SCIENCES AGRO-VÉTÉRINAIRES ET BIOLOGIQUES  
DÉPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique  
En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : PHYTOPHARMACIE APPLIQUÉE

**L'effet acaricide de l'huile essentielle de *Citrus  
limonum* sur *Varroa destructor* parasite de  
l'abeille *Apis mellifera***

Présenté par : Mlle **OTMANE SALEM**

Devant le jury :

Mme MEFTI H.	M.C.B	U.S.D.B	Présidente
Mme AMAD F.	M.A.A	U.S.D.B	Promoteur
Mme Kebbor D.	M.C.B	U.S.D.B	Examinatrice
Mme Ramdane K.	M.A.B	U.S.D.B	Examinatrice
Mr Boutoumi.Y	M.C.A	U.S.D.B	Invité d'honneur

# Remerciement

**Je tiens à remercier le bon dieu de m'avoir donné foie et le courage pour réaliser ce modeste travail.**

Toute ma gratitude à **Mme Ammad** pour son dévouement incomparable, son encadrement et pour la confiance qu'elle m'a accordé pour mener à bien ce travail. J'ai pu constamment bénéficier de ses suggestions et de ses encouragements,

**Mme Mefti H** qui m'a fait l'honneur de présider le jury à qui j'adresse ma sincère gratitude.

**Mme Kebbor D et Mm Ramdhane k** d'avoir bien voulu examiner et juger ce modeste travail.

Je tiens à remercier vivement **Mr Boutoumi** .Merci pour votre grande disponibilité, votre patience, vos conseils précieux apportés tout au long de l'élaboration de ce travail, ainsi que pour vos relectures minutieuses. Sincères reconnaissances.

**Mr Ramdhane S** pour son aide très précieuse.

Je tiens à remercier **Mr Djazouli Z**, de m'avoir accepté dans l'option de phytopharmacie, Merci pour tout ce que vous m'avez appris.

Je remercie également **Mme Triki-Ouchai. M** Ingénieur en chef, responsable du laboratoire à l'INA pour sa précieuse aide que je ne pourrais jamais oublier.

Je tiens à remercier **Mme AMINA** la Technicienne supérieure au niveau du laboratoire de zoologie pour son aide, sa bonne humeur et à sa gentillesse.

**Mr Mekki et Mr Ihdène** de l'INITA pour la coopération de mettre à notre disposition les moyens nécessaires afin de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier tous le personnel de l'institut national de chimie industrielle qui m'ont considéré comme une des leurs.

Mes remerciements s'adressent à **Mr Hamzaoui** , directeur de la coopérative apicole de la Chiffa d'avoir mis toute sa confiance en moi pour le traitement du rucher.

**A Samira** la technicienne.

Mes sincères remerciements à **Mr Aroun** que je lui dois beaucoup de respects.

Enfin j'exprime ma gratitude à tous mes enseignants de phytopharmacie appliquée





## *Dédicace*

*Au Bon Dieu qui nous a donné foi, santé et le courage de mener ce travail;  
Je dédie ce modeste travail à :*

*-La mémoire de mon père Allah yarhmou que son âme repose en paix  
et à ma mère Allah yahfedha wa yatwalha fi omrha.*

*- Wadie qui m'a soutenu dans les moments difficiles.*

*- Mes amis : Farida, Ghada, Mounira, Hanane, Naima, Nacera, Saida  
et Djihad et Mustapha qui m'ont toujours aidé et encouragé, que dieu  
les protège en témoignage de ma profonde gratitude et, reconnaissance.*

*- Toute la promotion master 2 Phytopharmacie Appliquée intégrée 2013.*

*A toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à la  
réalisation de ce travail.*

---

## Discussion

Depuis l'apparition de la varroase, de très nombreux chercheurs travaillant sur le varroa n'ont pas manqué d'imagination pour traquer l'acarien avec toutes sortes de méthodes et toutes les molécules dont ils pouvaient disposer dans les pays où ils travaillaient (Faucon, 1992). Actuellement en Europe, plusieurs produits sont appliqués, les plus utilisés sont à base de Fluvalinate et d'Amitraz. Il est à signaler qu'à l'heure actuelle aucun traitement ne s'est montré efficace à 100%.

Cependant l'utilisation des produits acaricides Lors du traitement chimique « varroacides » pose le problème de la formation des résidus dans les produits de la ruche, étant donné que les colonies d'abeilles doivent être traitées chaque année.

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées, en effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules pouvant être exploitées dans différents domaines entre autres la phytoprotection ( Auger et Thibout , 2002).

Actuellement, les huiles essentielles commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ces produits font l'objet des études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, acaricides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef, 2010).

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certains métabolites issus des plantes afin de mettre au point des méthodes de lutte intégrée, peu onéreuses, efficaces et aisément utilisables par les agriculteurs.

Dans ce contexte, deux objectifs ont été menés tout au long de ce travail. Le premier concernait l'extraction de l'huile essentielle de *Citrus limonum* et l'identification de sa composition chimique. Le second, est de tenter de trouver un éventuel pouvoir acaricide *in vitro et in situ* de l'huile essentielle cités ci-dessus sur l'acarien *V. detrcotor*.

### **1- Extraction de l'huile essentielle de *Citrus limonum***

Les résultats obtenus montrent que le rendement en HE de *Citrus limonum* a été obtenu en pleine maturité des fruits (1.20 %). Ces résultats corroborent avec ceux de (Réga et al, 2003) qui ont rapporté que les rendements chez les citrus diffèrent selon l'espèce et contre toute attente ont signalé des rendements de 1 à 3 %.

Le rendement en huile pourrait être expliqué selon (Kelen et Tepe, 2008) par le choix de la période de la récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité d'HE. Le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la

plante utilisée, le degré de fraîcheur, la méthode d'extraction employée, etc. Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur le rendement en HE.

Les résultats du rendement obtenus suite à l'entraînement à la vapeur à l'échelle du laboratoire ont montré que le rendement en HE extraite du zeste de citron « *Citrus limonum* » est de 1.20 %. Rendement très optimal pour l'économie. De nos jours hydrodistillation reste la méthode d'extraction des HE la plus convoitée par l'industrie cependant l'extraction par le gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) supercritique sous haute pression engendre des rendements supérieurs et des HE caractérisées par un profil organoleptique naturel, néanmoins l'utilisation de cette méthode reste limitée dans la pratique industrielle pour des raisons de rentabilité économique. (Djinane et al 2011 a, b.)

Les H.E. contiennent un nombre considérable de familles biochimiques, par le biais d'un Chromatogramme qui donnera la composition chimique exacte d'une H.E. (Jocteur, 2006). Il apparaît ainsi une influence du cycle végétatif, non seulement sur le rendement en HE, mais aussi sur le profil chimique de celle-ci. Les résultats obtenus montrent que l'HE de citron extraite à partir d'échantillons collectés au mois de Mai correspondant à l'étape de pleine maturité des fruits était relativement plus riche en composés. Les huiles essentielles analysées sont caractérisées par une importante fraction monoterpénique et par la prédominance de composé : limonène (61.69%). ainsi que d'autres composés majoritaires tel que ( $\beta$ -pinène et  $\gamma$ -terpinène représenté avec des pourcentages aussi importants, suivi par d'autres molécule à faible teneurs comme  $\alpha$ -pinène, géraniol,  $\beta$ -myrcène. Nos résultats concernant le profil chimique de l'huile essentielle de citron concordent avec ceux de Vekiari et al. (2002) qui ont montré que les essences de citron sont caractérisées par des concentrations élevées en  $\beta$ -pinène,  $\delta$ -terpinène et  $\alpha$ -pinène (21,2 %, 17,4 %, 9,8 %) respectivement.

Plusieurs investigations de Moufida et Merzouk (2003) ; Belletti et al., (2004) ; Rehman et al.,(2004) ont démontré que, généralement les HE des *citrus* sont constitués principalement de composés mono-terpéniques (97%). Alors que les autres composés comme les alcools, les aldéhydes et, les esters ne sont présentés qu'avec des teneurs faibles allant de 1,8 et 2,2 %.

Nogata et al., (2006) ont conclu qu'en plus des mono-terpènes, les HE des agrumes renferment des acides gras en quantité assez faible (0,8 %). L'acide linoléique se trouve dans *C. limonum*. Les flavonoïdes se retrouvent dans les huiles de Citrus et composent la partie non volatile et ils sont utile dans la différentiation entre les espèces des agrumes.

Selon Senatore et al. (2000), les variations rencontrés dans la composition chimique des HE, du point de vue qualitative et quantitative, peuvent dépendre de l'un ou de la combinaison des facteurs : le patrimoine génétique, l'âge, l'environnement de la plante et la présence de chémotype.

## 2- Activité acaricide de l'huile essentielle de *Citrus limonum*

Les résultats relatifs aux traitements à base de l'huile essentielle de citron ont montré une toxicité temporelle. Les applications *in situ* réalisées ont enregistré une efficacité sur le taux de mortalité de la population de l'acarien étudié, un effet choc est signalé à partir de 24 heures s'est affaibli au bout de 72 heures. Les mêmes résultats nous ont permis de signaler une gradation de toxicité allant de la dose complète (D3) puis la dose (D2) et enfin la faible dose (D1). En revanche les résultats de traitement *in vitro* ont montré un effet acaricide signalé sur les populations résiduelles à partir de 24 heures s'est accentué au bout de 48 pour atteindre le maximum à 72 heures. Les résultats pour le facteur doses sont similaires avec celles obtenus durant l'application *in situ*. Cet état de fait nous amène à suggérer deux hypothèses.

La première est relative à la similarité de toxicité entre le mode action différent de l'huile essentielle *in situ et in vitro*. L'huile essentielle testée a eu un effet répressif sur la population de *V. destructor*. Cela suggère que la molécule biologique testée a pu atteindre le site ciblé de l'acarien à travers la pénétration des molécules après pulvérisation de l'huile de citron. Nos conclusions rejoignent celles de plusieurs études qui se sont intéressées :

Pour les résultats obtenus après le traitement dans les conditions naturelles (pulvérisation sur les ruches) à différentes doses (25, 50, 75) % se sont avérés très efficaces. Mais l'estimation du taux d'infestation reste un vrai problème vu la difficulté du comptage de la population initiale du *Varroa*.

Selon (Imdorf *et al.*, 1996a ; Imdorf *et al.*, 1999) on peut vérifier que cet objectif est bien atteint si moins d'une chute naturelle journalière d'acarien est observée à l'issue de la période d'efficacité du traitement de fin d'été. Près traitement total, bien qu'aucune molécule acaricide ne montre une efficacité de 100 %, on peut estimer que si le traitement acaricide est efficace, la population de *V. destructor* récoltée sur le fond des ruches à l'issue du traitement s'approche de la population totale d'acariens présente au moment de la mise en place de ce traitement.

Nos résultats se concordent avec les résultats d'Abdou-Rahman et Rabet (2008), qui ont également indiqué que le nombre de varroa morts après 24 h de pulvérisation au jus de citron était très important mais son efficacité a diminué au bout de 48 h, et après 72 heures le nombre de varroa morts recueillis au fond de la ruche était presque nul. Au long des trois premières pulvérisations, tous les traitements étaient significativement efficaces contre le varroa que les colonies non traitées. Les concentrations les plus élevées (50 %, 75% et 100%) parmi les colonies traitées avec 10 %, 25%, 50%, 75% et 100 % de jus de citron ont provoqué une chute très importante du nombre d'acariens morts.

En revanche, d'autres composants testés des huiles essentielles, tel que le thymol qui a donné de meilleurs résultats. Dans les essais en champ, le thymol pur et les mélanges à base de thymol ont montré une activité varroacide élevée. De même, des tests *in vitro* ont mis en évidence une activité varroacide de thymol assez importante, la pulvérisation de l'huile de thymol à une concentration de 20g/l génère un taux de mortalité de 90% (Colin et al, 2004). En effet, son action varroacide a déjà été décrite il y a plusieurs années dans des travaux en Italie et en Allemagne (Vie, 1984) chez les abeilles.

Isman (1999), avance que les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. Il émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou. C'est le cas de L-limonène qui exerce une répression satisfaisante sur le varroa.

Les huiles végétales ont été testées avec succès pour le contrôle d'*Acarapis woodi*, acarien parasite du système respiratoire de l'abeille, soit seules (Sammatoro et al, 1994), soit associées à du menthol (Delaplane, 1992). Ainsi, Su et al (1972) citent l'huile essentielle de citron pour inhiber l'éclosion de la bruche *Callobruchus maculatus* F.

Bien que le mode d'action de l'huile essentielle de citron n'est pas connu, mais les résultats obtenus et l'efficacité d'HE du citron contre le varroa sur les colonies d'abeilles peuvent être interprétés suite à l'effet des composés chimiques d'HE du citron, les principaux constituants dont le « limonène l'élément majoritaire »,  $\beta$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène, Myrcène, Géraniol, Tèrpinolène, Nérol, Linalol). (Farhat et Chemat, 2010).

L'efficacité d'une H.E dépend de sa richesse en composés phyto-chimiques, plus l'H.E est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une H.E est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques et cétoniques). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des H.E et semblent agir en synergie avec les composés principaux (Zhiri, 2006).

Delaquis et al.(2002) ont estimé l'activité antimicrobienne de certaines HE pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs à de faibles taux mais non négligeables tels que le nérol, bornéol, linanol, cinnamaldehyde, carvacrol, géraniol, myrtynal, et eugénol connus pour exhiber une activité antibactérienne impliquées dans les phénomènes de synergie entre les différents constituants qui peuvent être à l'origine d'une activité antimicrobienne beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires.

Aussi plusieurs auteurs ont démontré que les bactéries à Gram (négatif) peuvent



être sensibles à l'action des HE. Moreira et *al.* (2005), ont montré que parmi les composants de l'HE de *C. limonum* était ( $\alpha$ -terpinéol etc.) sont connus par leurs fort pouvoir antimicrobien, dû à leur solubilité dans l'eau, ce qui leur confère une haute habilité à pénétrer les parois des cellules bactérienne (Belletti et *al.*, 2004)

Ainsi, les effets antibactériens des HE de *Citrus* ont été expliqués principalement par la présence des terpènes C<sub>10</sub> et C<sub>15</sub> les hydroxyles des groupements phénoliques sont capables de se lier aux sites actifs des enzymes cibles par des liaisons d'hydrogènes. Les alcools terpiniques (trans-pinocarvenol, borneol, linalol, p-cymène-8-ol,  $\alpha$ -terpinéol etc.) sont connus par leur fort pouvoir antimicrobien, dû à leur solubilité dans l'eau, ce qui leur confère une haute habilité à pénétrer les parois des cellules bactériennes (Belletti et *al.*, 2004).

Idir (2010), a montré que sur cinq espèces bactériennes. *S. aureus* était l'espèce la plus sensible à l'action des HE testées (Sariette, Menthe poivrée, Myrthe, Eucalyptus, Lentisque, Lavande et Citron).

La seconde hypothèse repose sur l'effet toxique des doses appliquées. Cependant, les doses (D2 et D3) se sont individualisées par rapport à la faible dose (D1) en enregistrant le taux de toxicité le plus élevé. Cela pourrait être expliqué par la couverture d'efficacité assez prolongée causant ainsi une nuisance au développement de *V. destructor*. Des travaux Rekkab et Esserir (2011), montrent que le traitement à l'HE de thym à la dose de 1% présente une meilleure activité acaricide avec un taux d'infestation de varroa 67%, mais cette dose bloque la ponte de la reine. Alors que Lamara-Mohamed (2012) a constaté que le traitement à l'HE du thym à la dose 0,5 % a un effet significatif ( $p=0,012 \leq 0,05$ ) sur la mortalité du varroa, il montre une activité acaricide importante s'élevant en moyenne à 263 individus avec un taux d'infestation de (32,62 %), et sans effets néfastes sur le développement des colonies. Fathy et Fouly (1995) ont enregistré que 10 ppm seulement d'huile essentielle du citron provoque 44,9 % du pourcentage de réduction des varroas des colonies d'abeilles infestées.

Abdou-rahmane et Rateb (2008), constatent que la composition chimique du jus de citron diminue considérablement la population globale de varroas dans une colonie d'abeilles à des concentrations élevées. Le jus de citron pourra être utilisé comme un traitement biologique afin de contrôler le parasitisme.

L'huile de la citronnelle est également efficace, elle a un effet répulsif sur le varroa, elle réduit dans des colonies traitées la population de varroas à une valeur très faible (Abd El- Wahab et Ebada, 2006).

Milani (2001) a déclaré que l'acide oxalique et l'acide citrique ont un effet toxique sur le varroa, sans exclure d'autres moyens d'action. L'acide citrique est moins toxique que l'acide oxalique. Par ailleurs l'augmentation de la chute du nombre de

varroas dans les colonies d'abeilles traitées avec du jus de citron peut activer des mécanismes de défense des ouvrières contre le varroa.

Smirnov et *al.* (1984) ont utilisé une préparation acaricide de la plante (KAS -81) avec du sirop de sucré pour le contrôle de la varroase au cours de toute la saison (y compris l'hivernage des colonies) sans nuire aux abeilles.

Par rapport à l'activité temporelle de l'huile essentielle testée, nous avons constaté une diminution sensible des taux des populations résiduelles dans le test *in vitro*, la différence de toxicité observée entre le laps de temps de 24 heures à 72 heures s'explique probablement par la vitesse d'action des produits. Les huiles essentielles agissent selon le rythme de volatilité de la molécule chimique active.

Les résultats obtenus dans cette étude nous montrent que l'huile essentielle à base de citron présente une forte toxicité sur les populations de *V. destructor*. La persistance de l'efficacité de l'huile essentielle testée est meilleure pendant 72 heures au moins. Le support d'adhésion de l'huile, pour effet de déclencher l'évaporation des matières actives, d'augmenter la concentration en huile et prolongerait ainsi l'efficacité de la formulation.

L'huile essentielle utilisée dans notre expérimentation a montré une efficacité en condition naturelles (Le rucher) et dans des conditions contrôlées (laboratoire), nous pouvons conclure que l'huile de citron ne présentait aucun problème ou toxicité quelconque envers les abeilles aucune mortalité d'abeilles n'a été observée suite à notre traitement) Ainsi, Les mêmes résultats obtenus après l'utilisation des huiles essentielles du citron extraites soit par hydro-distillation soit par expression à froid ne présentent aucun risque de toxicité, ni aiguë ni chronique (Robert et Lobstein, 2005).

## Liste des graphes et des tableaux

Figure.1 : Les trois des différentes castes des abeilles

Figure.2 : La reine des abeilles

Figure.3 : Les ouvrières sur un cadre sur un cadre de couvain ouvert rempli d'œufs et de larves

Figure.4 : Les faux bourdons

Figure.5 : Détermination de la caste d'individu dans une colonie d'abeilles

Figure.6 : Les œufs des abeilles

Figure.7 : Larves baignant dans la gelée royale

Figure.8 : Stade nymphal

Figure.9 : L'émergence de l'imago de la cellule royale

Figure.10 : Le cycle de développement de la reine, des ouvrières et du faux bourdon

Figure.11 : La morphologie de l'abeille

Figure.12 : Dynamique de la population théorique moyenne par ruche durant une année

Figure.13 : L'abeille tellienne

Figure.14 : L'abeille domestique *Apis mellifera sahriensis*

Figure.15 : Présentation du hôte-parasite *Apis mellifera* et *Varroa destructor*

Figure.16 : Répartition du varroa à travers le monde (les zones en rouge)

Figure.17 : Femelle adulte du *Varroa destructor*

Figure.18 : Mâle adulte du *Varroa destructor*

Figure.19 : Evolution de la population varroa durant une année

Figure.20 : Varroa sur l'abeille du stade larvaire au stade adulte

Figure.21 : Synchronisation entre les différents stades du développement de l'abeille et du varroa

Figure.22 : Abeilles nouvellement émergées montrant des symptômes de malformations des ailes causées par un virus transmis par le *Varroa destructor*

Figure.23 : Répartition des vergers agrumicoles Algériens

Figure.24 : Classification des citrons

Figure.25 : L'arbre du citronnier

Figure.26: Présentation systématique de la plante du citronnier (feuilles, fleurs et fruits)

Figure.27 : Abeilles infestées par le varroa

Figure.28 : Le dispositif expérimental (original)

Figure.29 : Préparation du zeste de citron pour l'extraction (originale)

Figure.30 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau au laboratoire de « chimie industrielle »

Figure.31 : Hydrolat récupéré dans une fiole

Figure.32 :Burette pour la séparation d'HE de l'hydrolat

Figure.33 : Collecte de l'huile essentielle du citron complètement Bio

Figure.34 : Le chromatographe

Figure.35 : La seringue du chromatographe

Figure.36 : La colonne du chromatographe

Figure.37 : Le tensioactif « Tween 80 » dilué à 3% par H<sub>2</sub>O

Figure.38 : HE diluée à différentes doses D1, D2, D3 soit (25, 50, 75)%

Figure.39 : Application du traitement à base de l'HE au rucher

Figure.40 : Méthode d'estimation du varroa (dite des langes)

Figure.41 : Application du traitement sur les abeilles dans les boites de pétri

Figure.42 : Comptage du varroa sur les boites de pétri

Figure.43 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps d'extraction

Figure.44 : Les principaux constituants d'HE de *Citrus limonum*

Figure.45 : Le chromatogramme du composé majoritaire le «L- limonène : Cyclohexene, 1- Méthyl -4-(1-xéthylethenyl), (s) »

Figure.46 : Le spectromètre du composé majoritaire le « limonène »

Figure.47 : Effet comparé de la variation du taux de mortalité des populations résiduelles de *V. destructor* sous l'effet de l'huile essentielle à base de citron (**a**: produits, **b**: doses, **c**: périodes)

Figure.48 : Évolution temporelle des populations résiduelles du *V. destructor* sous l'effet de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum*

Figure.49 : Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de *V. destructor* sous l'effet des différentes doses de l'huile essentielle à base de citron (**a** : périodes, **b** : doses)

Figure.50 : Effet comparé des populations résiduelles de *V.destructor* à l'égard des différentes doses de l'huile essentielle à base de citron (**a**: après 24h, **b**: après 48h, **c**: après 72h)

Figure.51 : Projection de l'effet acaricide de l'huile essentielle sur les axes 1 et 2 des A.C.P.

Tableau. 1 : Signes cliniques et l'importance des maladies d'abeilles provoqués par les prédateurs, parasites, champignons, et bactéries

Tableau. 2 : Principaux virus de l'abeille ainsi que l'impact supposé ou démontré des viroses sur la santé des colonies et les symptômes décrits sur la ruche

Tableau. 3 : Superficies occupée dans les principales Wilayates

Tableau. 4 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus limonum*.

Tableau. 5 : Représentations de la molécule du limonène, du temps de rétention, de l'abondance relative et le pourcentage

:

# TABLE DES MATIERES

<b>Sommaire :</b>	<b>Pages</b>
<i>Dédicace</i>	
<i>Remerciement</i>	
<i>Table des matières</i>	
<i>Résumés (français, anglais, arabe)</i>	
<i>Liste des figures</i>	
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I: Présentation de l'abeille</b> .....	3
<b>1-Généralités</b> .....	3
<b>2- Classification systématique de l'abeille</b> .....	3
<b>3- Composition de la colonie d'abeilles</b> .....	4
3- 1- Les femelles .....	4
3-1-1 La reine.....	4
3-1-2 Leouvrières .....	5
3-2 Les mâles (ou faux-bourdons) .....	6
<b>4- Ontogénèse de l'abeille</b> .....	7
4-1- Le couvain .....	7
4-1-1 Le couvain ouvert .....	7
a- Le stade œuf .....	7
b- Le stade larvaire.....	7
4-1-2 Le couvain operculé.....	8
a- Les nymphes.....	8
b- <i>L'imago et l'émergence</i> .....	9
<b>5- Morphologie des abeilles</b> .....	10
<b>6- Phases du cycle du développement d'une colonie d'abeilles</b> .....	10
<b>7- Les caractéristiques de l'abeille locale</b> .....	11
7-1 La race tellienne ( <i>Apis mellifica intermissa</i> ).....	12
7-2 La race saharienne ( <i>Apis mellifica sahariensis</i> ).....	12
<b>8 - Les principales maladies de l'abeille</b> .....	13
8-1 Maladies de l'abeille adulte.....	13
8-2 Maladies du couvain.....	13
8-3 Maladies parasitaires .....	13

<b>9 - Causes de mortalité des colonies d'abeilles</b> .....	13
9-1 Agents biologiques.....	13
9-2 Agents chimiques .....	16
<b>CHAPITRE II : Présentation du parasite Varroa destructor</b> .....	17
1- Historique.....	17
<b>2- Classification systématique du Varroa destructor</b> .....	17
<b>3- Répartition de la maladie</b> .....	18
3-1 Dans le monde.....	18
3-2 En Algérie .....	19
<b>4- Morphologie du Varroa</b> .....	19
<b>5- Les conditions du développement du varroa</b> .....	20
<b>6- Cycle de vie de la population de V. destructor dans une colonie au courant de l'année</b> .....	21
<b>7- Ontogénèse de V.destructor</b> .....	21
7-1 Synchronisation des formes immatures de V.destructor avec le cycle de développement de l'abeille A. mellifera.....	21
<b>8- Effets du varroa sur l'abeille</b> .....	23
<b>9- Symptômes</b> .....	24
<b>10- Lutte contre le varroa</b> .....	24
10-1 Traitements chimiques.....	24
10-2 Traitement alternatif .....	25
10-3 Traitement mécanique.....	25
<b>11- D'autres axes de recherche dans la lutte contre varroa</b> .....	25
11-1 Sélection d'abeilles hygiéniques .....	25
11-2 Les Bio-pesticides .....	25
11-3 Méthode d'estimation du niveau d'infestation .....	26
11-3-1 Méthode dite des « langes » .....	26
<b>CHAPITRE III. La présentation de l'espèce végétale Citrus limonum</b>	
<b>1- Historique</b> .....	26

<b>2- Situation actuelle du verger agrumicole</b> .....	27
<b>3- Les différentes variétés de citrus</b> .....	28
<b>4- La classification systématique</b> .....	30
<b>5- Généralités sur les huiles essentielles</b> .....	30
5-1 Rôle physiologique .....	30
5-2 Composition chimique .....	31
5-3- Localisation et lieu de synthèse.....	31
<b>6- Procédés d'Extraction</b> .....	32
6-1 Entraînement à la vapeur d'eau .....	32
6-3 Facteur de variabilité.....	32
<b>7-Facteurs extrinsèques</b> .....	32
<b>8- Toxicité des huiles essentielles</b> .....	33
<b>9- Utilisation des huiles essentielles</b> .....	33

## **CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES**

<b>1-Objectifs du travail</b> .....	34
<b>2- Présentation de la région</b> .....	34
2-1 Situation géographique et administrative .....	34
2-1-1- Le relief.....	34
2-2- Le milieu physique.....	35
2-2-1 Climat de la région .....	35
2-2-1-1 La température .....	35
2-2-1- 2 Les précipitations .....	35
2-2-1- 3 Les vents .....	35
<b>3-Présentation de la coopérative (Lieu de l'expérimentation)</b> .....	35
3-1 Le milieu naturel.....	36
3-1-1 Le matériel animal .....	36
3-1-2 Matériel végétal.....	37
<b>4- Methodologie de travail</b> .....	37
4-1 Extraction des huiles essentielles .....	37
4-1-1 Collecte du fruit de citron .....	37
4-1-2 Méthode d'extraction par entraînement à la vapeur.....	38
4-2 La chromatographie en phase couplée «CG/SM».....	41
4-2-1 La chromatographie en phase gazeuse .....	41
4-2-2 La spectrométrie de masse.....	41



4-2-3 La dilution de l'huile essentielle du citron.....	43
4-4 Application du traitement.....	44
<b>5- Méthode d'estimation du niveau d'infestation par V destructor</b>	
5-1 Méthode dite des « Langes » .....	45
<b>6-Analyse statistique des résultats.....</b>	<b>46</b>
6-1 Analyses multi-variées (PAST vers. 1.37,).....	46
6-2 Analyses de la variance (SYSTAT vers. 7, SPSS 2009).....	47

## CHAPITRE V. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

<b>1- Résultats d'extraction de l'huile essentielle .....</b>	<b>48</b>
1-1 Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle de <i>Citrus limonum</i> .....	48
1-2 La composition chimique de l'Huile essentielle de <i>Citrus limonum</i> .....	49
<b>2- Évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle.....</b>	<b>52</b>
2-1 Évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle à base de <i>Citrus limonum</i>	
2-2- Etude comparée de l'efficacité de l'huile essentielle à base de <i>Citrus limonum</i>	
2-3- Évolution temporelle de l'efficacité de l'huile essentielle à base de <i>Citrus limonum In vitro</i> .....	55
2-4- Etude comparée de l'efficacité de l'huile essentielle à base de <i>Citrus limonum</i> ...	
2-5- Variabilité de l'efficacité acaricide sur l'acarien <i>Varroa destructor</i> .....	57
<b>Chapitre vi : Discussion.....</b>	<b>58</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>64</b>
<b>.Références bibliographiques</b>	

# ***L'effet acaricide de l'huile essentielle de Citrus limonum sur Varroa destructor***

## **Résumé**

L'étude a porté en premier lieu sur l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur de *Citrus limonum* et l'identification de sa composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. En second lieu sur l'évaluation de l'efficacité de cette huile essentielle sur *Varroa destructor in situ* (au rucher) et *in Vitro*.

Les résultats de l'extraction ont montré un rendement en HE de *Citrus limonum* obtenu en pleine maturité des fruits en mois de mai (1.2%). La CG/SM a identifié la présence de plusieurs composés chimiques dont la prédominance de la fraction monoterpéniques du limonène. Les résultats de cette étude menée ont montré non seulement que la toxicité des différents traitements évolue avec l'augmentation de la concentration des doses appliquées, mais également une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité.

**Mots clés :** Bio-efficacité, Biopesticide, *Apis mellifera*, *Citrus limonum*, *Varroa destructor*.

# The miticide effect of essential oil from *Citrus limonum* on *Varroa destructor*

## Abstract

The study focused primarily on the extraction of essential oil by steam distillation of *Citrus limonum* and identification of its chemical composition by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Second on the evaluation of the effectiveness of this essential oil on *Varroa destructor in situ* (apiary) and *in vitro*.

The extraction results showed a good yield of HE *Citrus limonum* obtained from mature fruit peel in May (1.2 %). GC/MS, identified the presence of various chemical compounds with the predominant portion of monoterpene limonene.

The results of this study have shown that not only the toxicity of different treatments evolves with increasing concentration of the applied doses, but also a relatively gradual efficiency with respecting time (time after treatment), which results in a better efficiency.

**Keywords:** Bio-efficacy, Biopesticide, *Apis mellifera*, *Citrus limonum*, *Varroa destructor*

## تأثير مبيد السوس من الزيوت الأساسية للحمضيات على الفاروا المدمر

### ملخص

ركزت هذه الدراسة أساساً على استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير بالبخار من قشرة الليمون وذلك لتحديد التركيب الكيميائي عن طريق اللوني للغاز إلى جانب القياس الطيف الكتلي. و من طرف اخر على تقييم فعالية هذا الزيت الاساسي على الفاروا المدمر في الموقع (النحل) و كذلك في المختبر.

قدرت نتائج استخراج مردود ثمار الليمون كاملة النضج في شهر ماي ب (1.2 %) . حددت GC/MS وجود مركبات كيميائية مختلفة مع الجزء الغالب من monoterpene الليمونين . وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة أن الأمر لا يقتصر على درجة التسمم فقط انما على العلاج المختلف تتطور مع زيادة تركيز الجرعات تطبيقها ، ولكن أيضا كفاءة تدريجية نسبيا فيما يتعلق الوقت (الوقت بعد العلاج ) ، مما يؤدي الى تحسين الكفاءة .

### كلمات البحث

الكلمات الرئيسية: بيو فعالية، المبيدات الحيوية، النحل، الفاروا الطفيل، حمضيات.

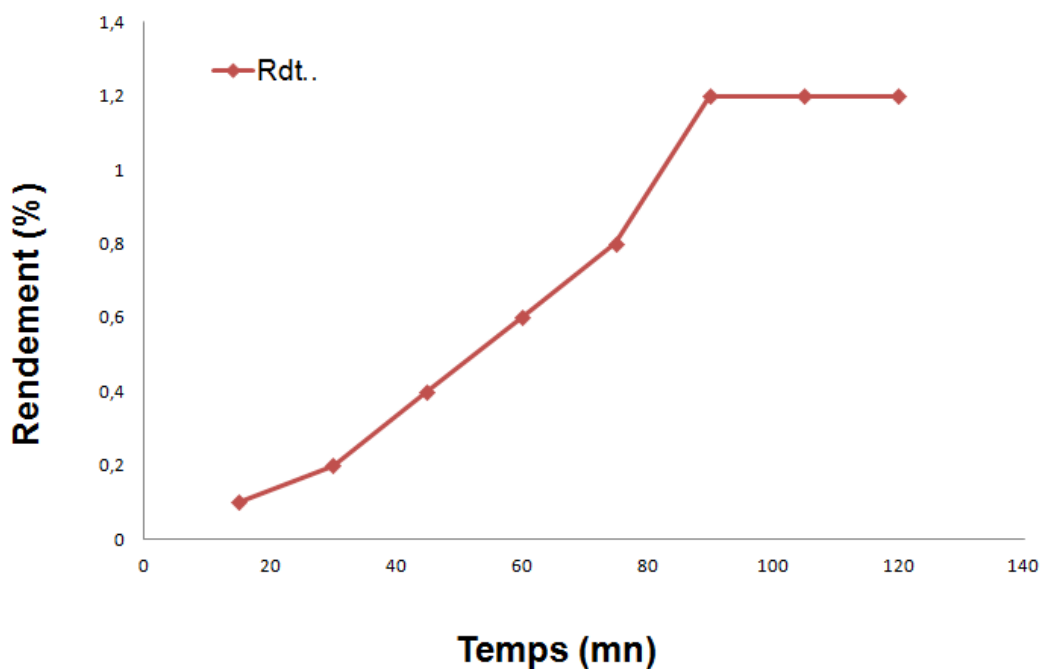


## CHAPITRE V. RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

### 1- Résultats d'extraction de l'huile essentielle

#### 1-1 Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle de *Citrus limonum*

La détermination de l'évolution du rendement de l'huile essentielle du citron en fonction du temps est illustrée dans la Figure (43).



**Fig.43:** Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps d'extraction

En se basant sur la Figure (43) il est constaté que l'allure générale de la courbe est croissante et qu'elle tend vers un palier au bout de 120 minutes.

En effet, la cinétique d'extraction de l'huile par entrainement à la vapeur indique une augmentation dans l'intervalle du temps de 15 à 120 mn le rendement augmente rapidement durant les soixante premières minutes, son évolution devient plus lente par la suite pour atteindre un rendement égal à 1,2 % présenté dans la figure (43) montrant la variation de la teneur relative de l'huile essentielle en fonction de la date

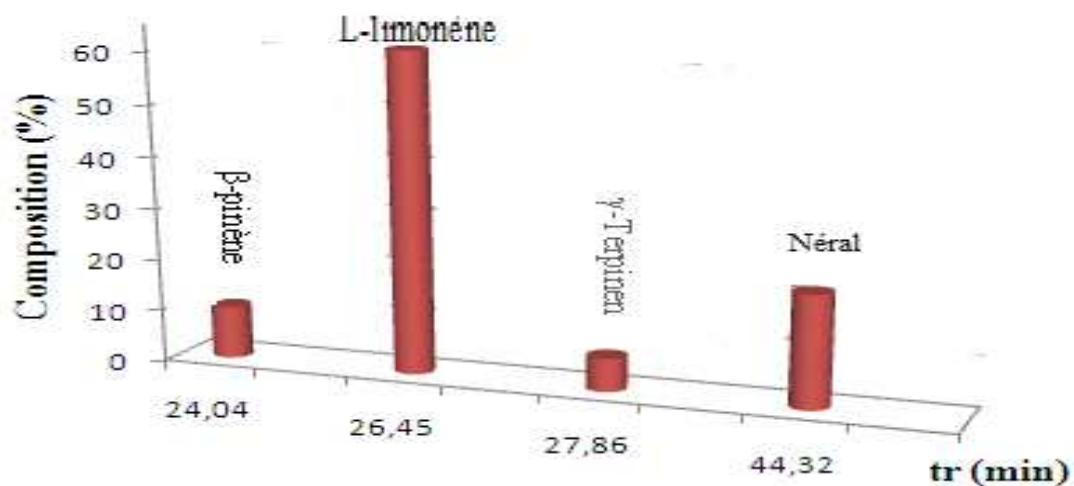
de cueillette des fruits de citron. A l'issu de ces résultats, il serait économiquement rentable de fixer la durée de cette huile à 90 minutes.

### 1-2 La composition chimique de l'Huile essentielle de *Citrus limonum*

Les résultats de l'identification qualitative et quantitative des composés chimiques par « CG /MS » d'HE est obtenue par les données de la masse des spectres et des temps de rétention sont résumés dans le tableau (4) et la figure (44) suivants :

**Tableau. 4** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus limonum*.

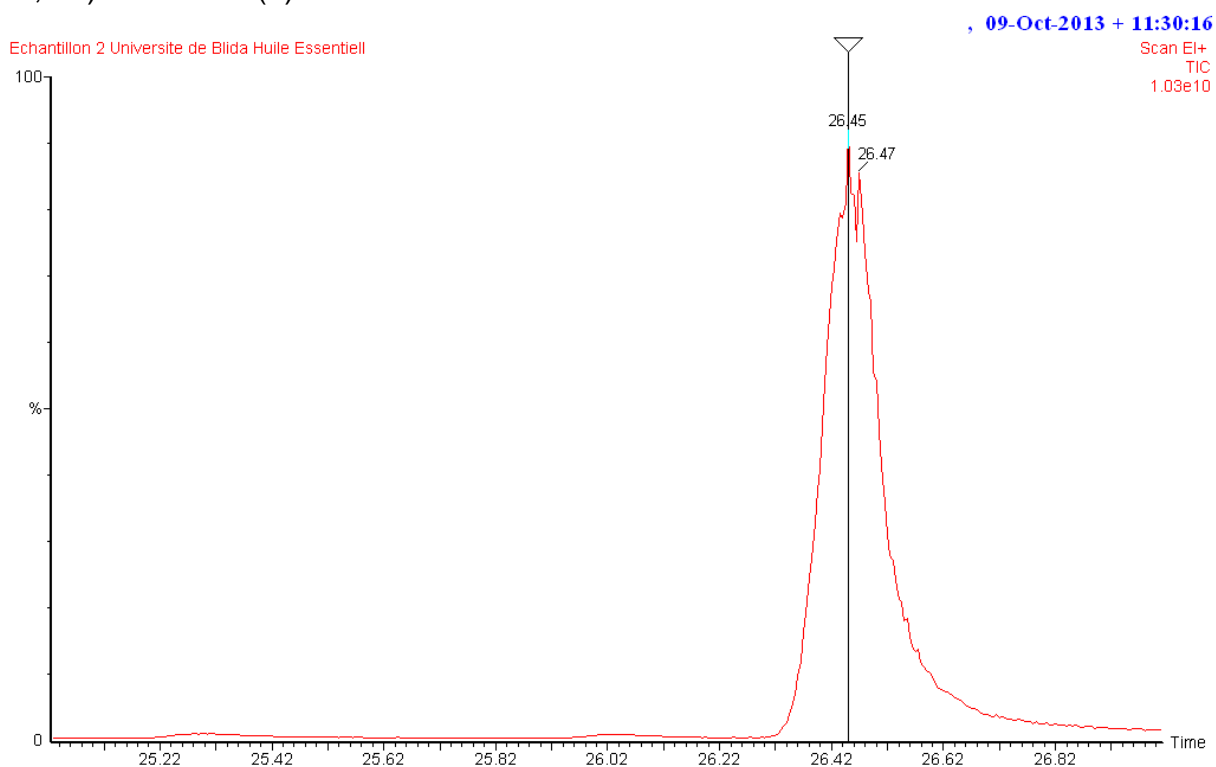
Les composants	Le temps de rétention	Le pourcentage %
<b>β-pinène</b>	24,04	10,23
<b>Limonène</b>	26,45	61,69
<b>γ-terpinène</b>	27,86	6,42
<b>β-Myrcène</b>	En trace	–
<b>Néral</b>	44,32	21,66
<b>Géraniol</b>	En trace	–



**Fig.44** : Les principaux constituants d'HE de *Citrus limonum*

Il apparaît ainsi qu'une influence du cycle végétatif, non seulement sur le rendement en HE, mais aussi sur le profil chimique de celle-ci. L'analyse de l'échantillon par CG/SM a permis d'identifier les différents composés représentant 98,7% de la composition chimique globale de l'HE de l'échantillon rassemblé au mois de mai et qui correspondent à la période de la maturité des fruits .

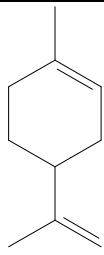
Le limonène (61,69) % est toujours le composé majoritaire. Donc, il faut noter que l'huile essentielle de notre espèce de citron à chémotype monoterpénique (figure 45, 46) et tableau (5).

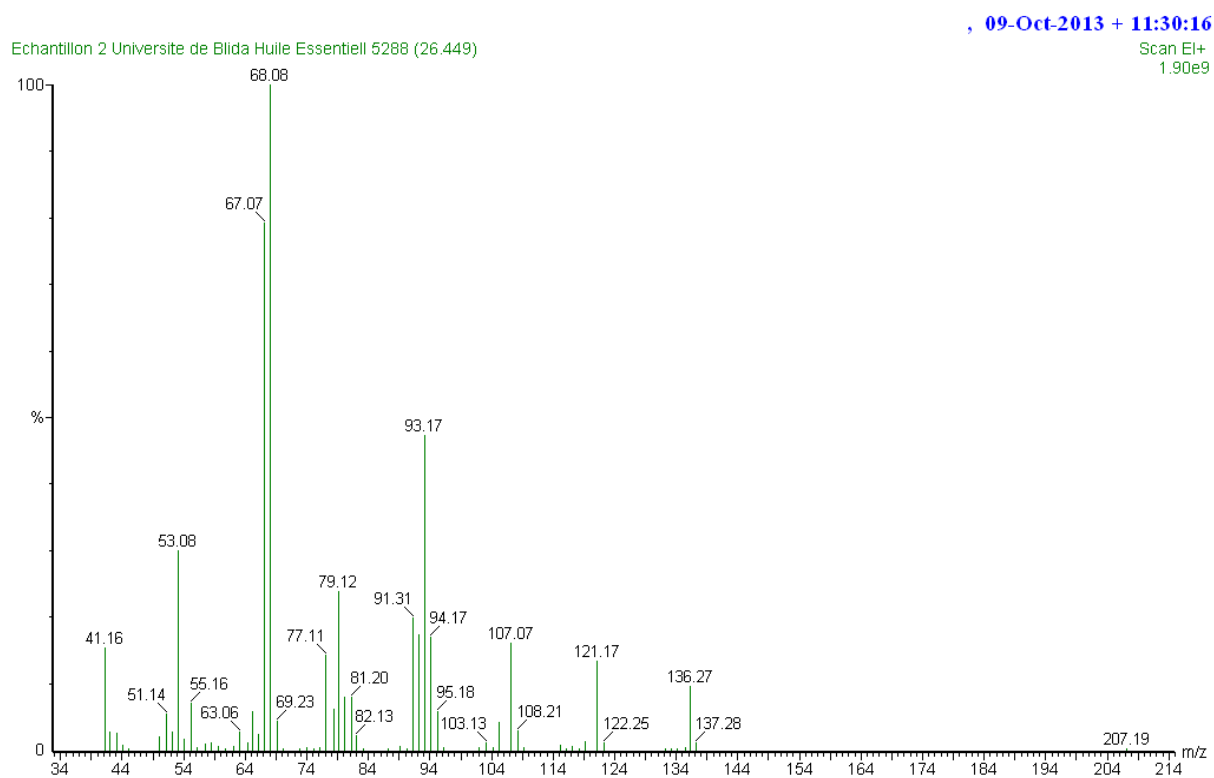


**Fig.45** : Le chromatogramme du composé majoritaire le «L- limonène : Cyclohexene, 1- Méthyl -4-(1-xéthylethényl), (s)»

- L'axe ( x) représente le temps de rétention.
  - L'axe (y) c'est l'abondance relative
  - Le pourcentage du composé est l'air sous le pic
- Pour chaque pic important nous avons un spectre et chaque spectre représente un résultat. (Fig.46)

**Tableau. 5 :** Représentations de la molécule du limonène, du temps de rétention, de l'abondance relative et le pourcentage

Molécule	Temps de rétention	Abondance relative	Pourcentage de limonène
 L-limonène	26,45	1054324096	61,69 %



**Fig.46 :** Le spectromètre du composé majoritaire le « limonène »



### **2- Évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle**

#### **2-1 Évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum***

La fluctuation de taux de mortalité des différents stades de développement de l'acarien *Varroa destructor*, a été évaluée sous l'effet de l'huile essentielle testée *in situ*.

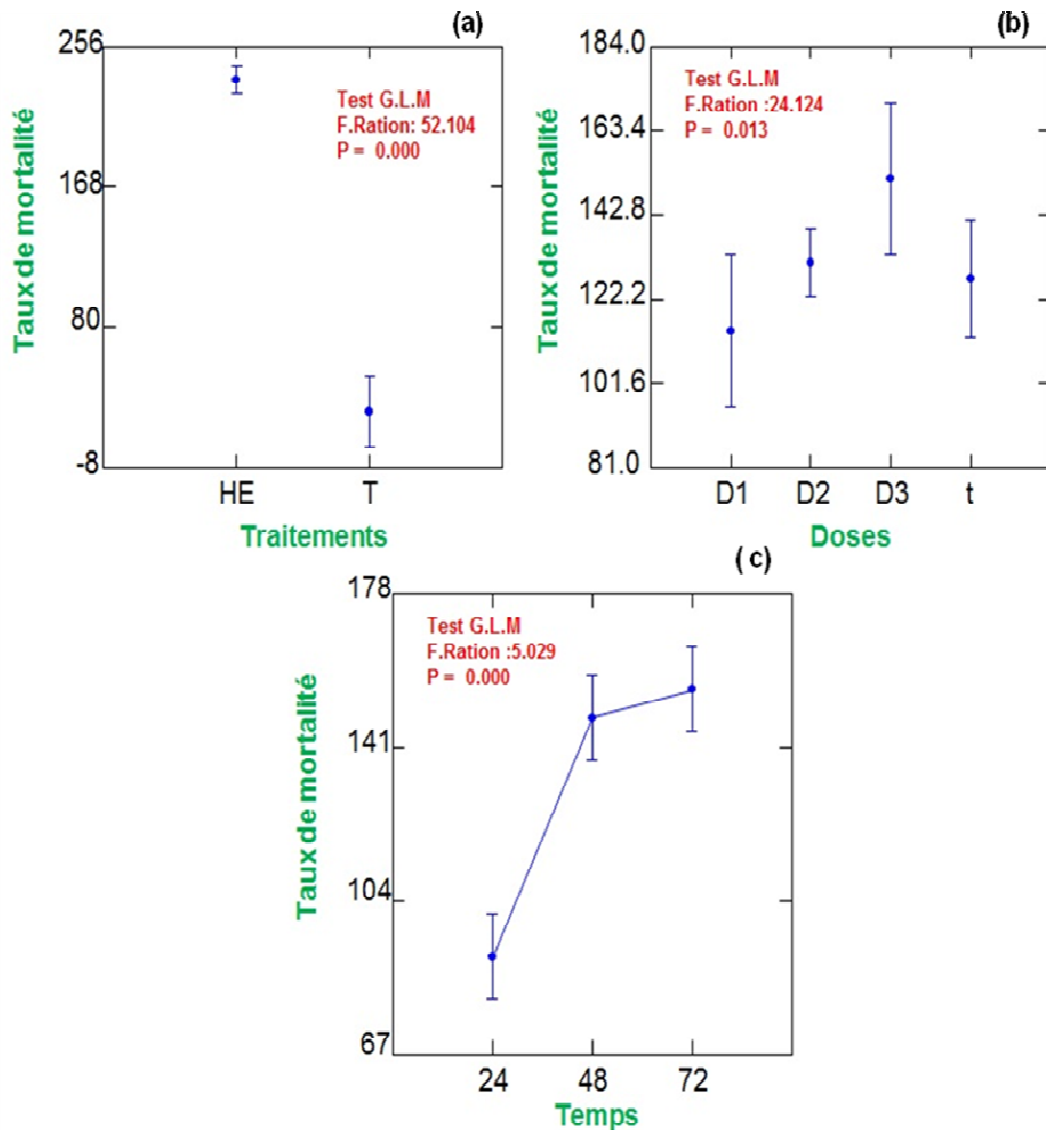
Le taux de mortalité est estimé par le comptage de la chute de l'acarien sur les langes après traitement en fonction du temps, et des doses d'applications.

Le taux de mortalité montre un effet choc de l'huile essentielle à 24 heures. Cependant, on note que l'effet de l'huile essentielle se révèle efficacement fort au bout de 24h, s'affaiblie à 48h pour atteindre un nombre restreint à 72h. La figure (47) montre une très forte efficacité de l'HE allant de la faible dose (D1= 05), à la dose (D2) et enfin à la plus forte dose (D3) à 24 heures.

#### **2-2 Etude comparée de l'efficacité de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum***

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer la variation du taux de mortalité des populations en fonction des doses de l'huile essentielle de Citron.

Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs. L'ensemble des résultats d'analyses sont insérés dans la Figure (47).



**Fig.47** : Effet comparé de la variation du taux de mortalité des populations résiduelles de *V. destructor* sous l'effet de l'huile essentielle à base de citron (**a**: produits, **b**: doses, **c**: périodes)

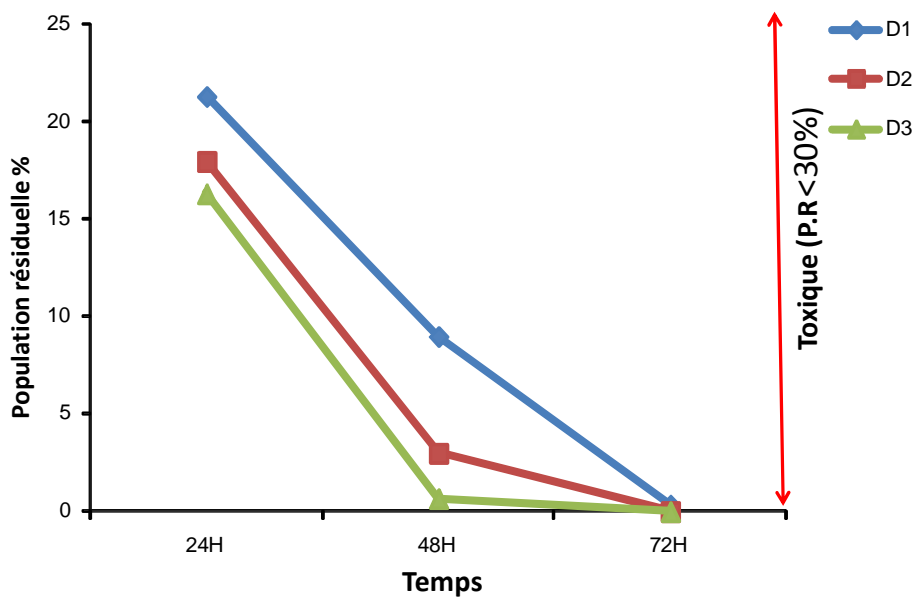
La composition chimique de l'huile essentielle de citron (*Citrus limonum*) sur les populations d'acarien traité présent une forte toxicité (Fig.47). Les résultats obtenus montrent l'importance du facteur temps sur l'efficacité du traitement utilisé. Par suite, ces derniers présentent à 24h une forte toxicité sur les populations, deviennent moyennement toxique à 48h pour atteindre un taux de mortalité faible à 72 h.

L'effet des doses de l'huile testée sur le taux de mortalité du varroa révèle par le GLM, l'application des doses (D3) et (D2) de l'huile essentielle présentent une forte toxicité 89% alors que l'application de dose (D1) montre une moyenne toxicité (55) % (Figure.47).

### 2-3 Évolution temporelle de l'efficacité de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum* *In vitro*

Les populations résiduelles obtenues par le test *in vitro* sont estimées à travers la différence entre la disponibilité des individus avant et après traitement. Une projection a été réalisée en faisant ressortir la fluctuation des populations résiduelles en fonction du temps, et des doses d'applications.

L'évolution temporelle des populations résiduelles montre un effet répressif de l'huile essentielle s'étalant sur une période après traitement de 24 à 72 heures. Cependant, on note que l'effet de l'huile essentielle se révèle efficacement moyen au bout de 24h, s'accroît à 48h pour atteindre son efficacité maximum. Figure (48) montre une efficacité croissante et graduelle de l'huile essentielle allant de la faible dose (D1= 05), à la dose (2) et enfin à la plus forte dose (D3).



**Fig.48 :** Évolution temporelle des populations résiduelles du *V. destructur* sous l'effet de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum*

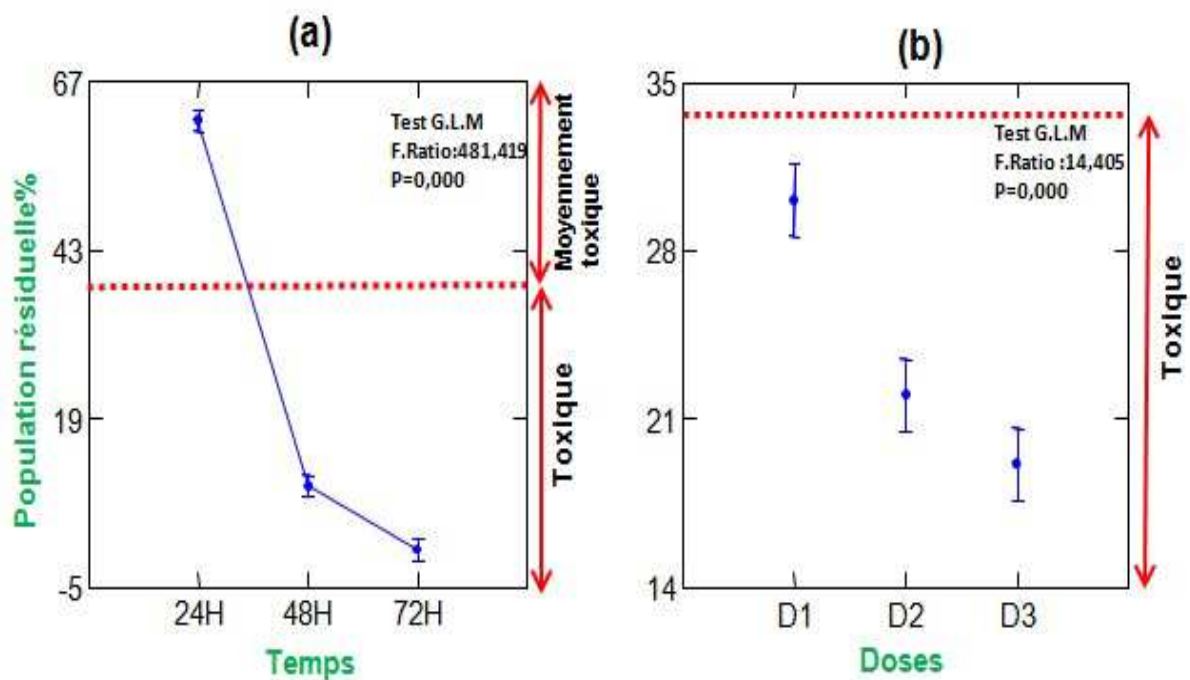
### 2-4 Etude comparée de l'efficacité de l'huile essentielle à base de *Citrus limonum*

Nous avons utilisé le modèle général linéaire (G.L.M.) de manière à évaluer la variation temporelle de la structuration des populations résiduelles en fonction des doses de l'huile essentielle de *Citrus limonum*.

Ce modèle permet d'étudier l'effet strict et individuel des différents facteurs sans faire intervenir les interactions entre les facteurs. L'ensemble des résultats d'analyses sont insérés dans la Figure (49).

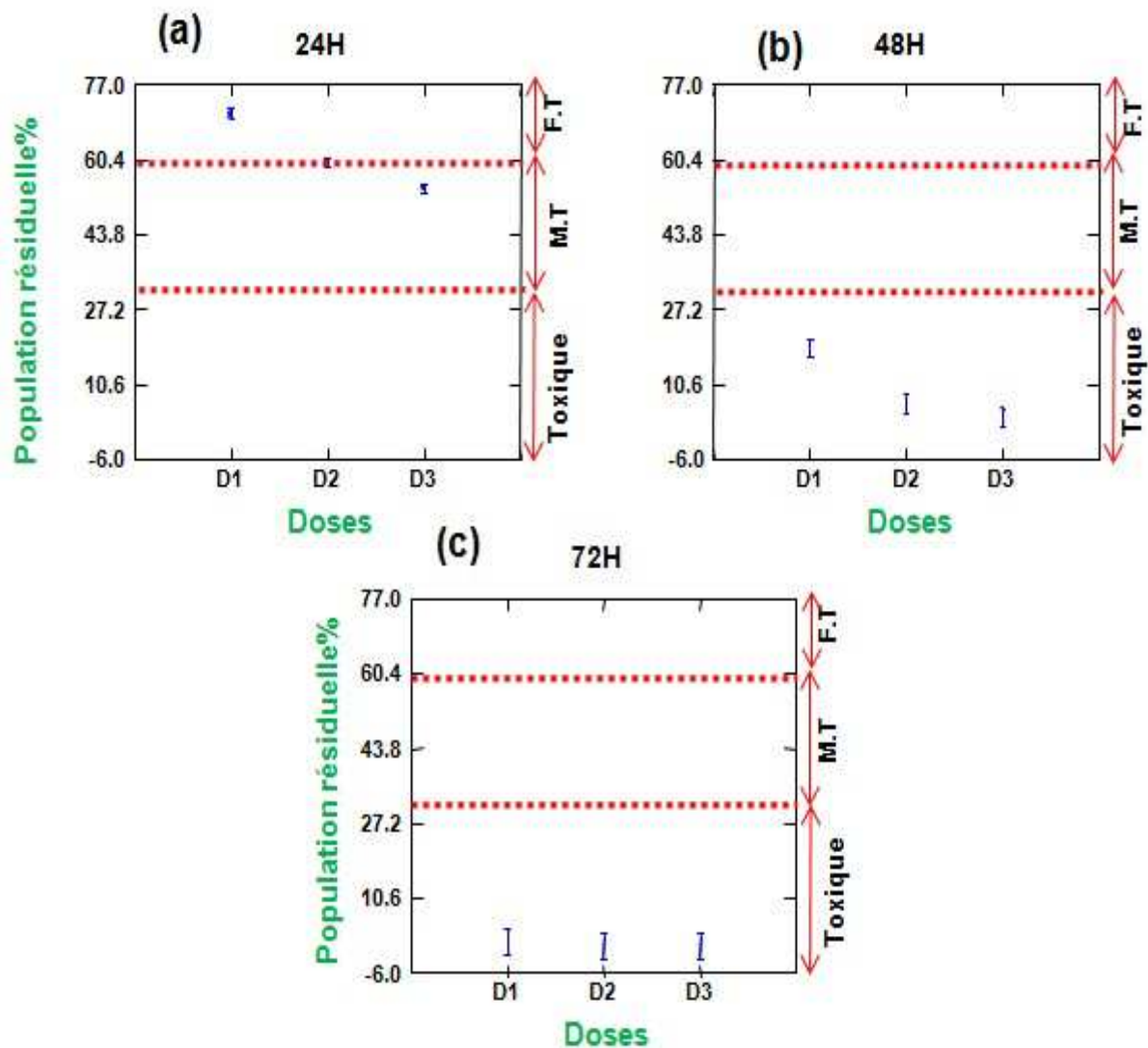
La composition chimique de l'huile essentielle de citrons sur les populations résiduelles présente une forte toxicité (Fig.49). Les résultats obtenus montrent l'importance du facteur temps sur l'efficacité du traitement utilisé. Par suite, ces derniers présentent à 24h une moyenne toxicité sur les populations résiduelles ( $43 < PR < 60\%$ ), deviennent fortement toxique à 48h ( $PR < 19\%$ ) (Fig.49) pour atteindre le maximum à 72 h ( $-5 < PR < 19\%$ ).

L'effet des doses de l'huile testée sur le taux des populations résiduelles révélé par le GLM, l'application des doses (D3) et (D2) de l'huile essentielle présentent une forte toxicité ( $PR < 22\%$ ) alors que l'application de dose (D1) montre une moyenne toxicité ( $28 < PR < 35\%$ ) (Figure. 49).



**Fig. 49:** Effet comparé de la variation temporelle des populations résiduelles de *V. destructor* sous l'effet des différentes doses de l'huile essentielle à base de citron (**a** : périodes, **b** : doses).

Les résultats de la figure (50) mettent l'effet net et très important du facteur dose. Il apparaît une relation étroite entre la dose du traitement et la période après traitement. Après 24h, toutes les doses de l'huile essentielle à base de citron ne signalent qu'une légère toxicité ( $PR \geq 60\%$ ) Fig. (50a) alors qu'après 48h, le traitement appliqué à la dose (D2) et la dose (D3) offrent une moyenne toxicité ( $43.8\% < PR < 60.4\%$ ). Après 48h, on remarque que le temps favorise une meilleure toxicité pour tous les traitements appliqués à différentes doses. L'huile essentielle enregistre un taux de populations résiduelles bas ( $PR < 10.6\%$ ) à 72 heures avec toutes les doses appliquées Fig. (50 b, c).



**Fig.50:** Effet comparé des populations résiduelles de *V. destructor* à l'égard des différentes doses de l'huile essentielle à base de citron (a: après 24h, b: après 48h, c: après 72h).

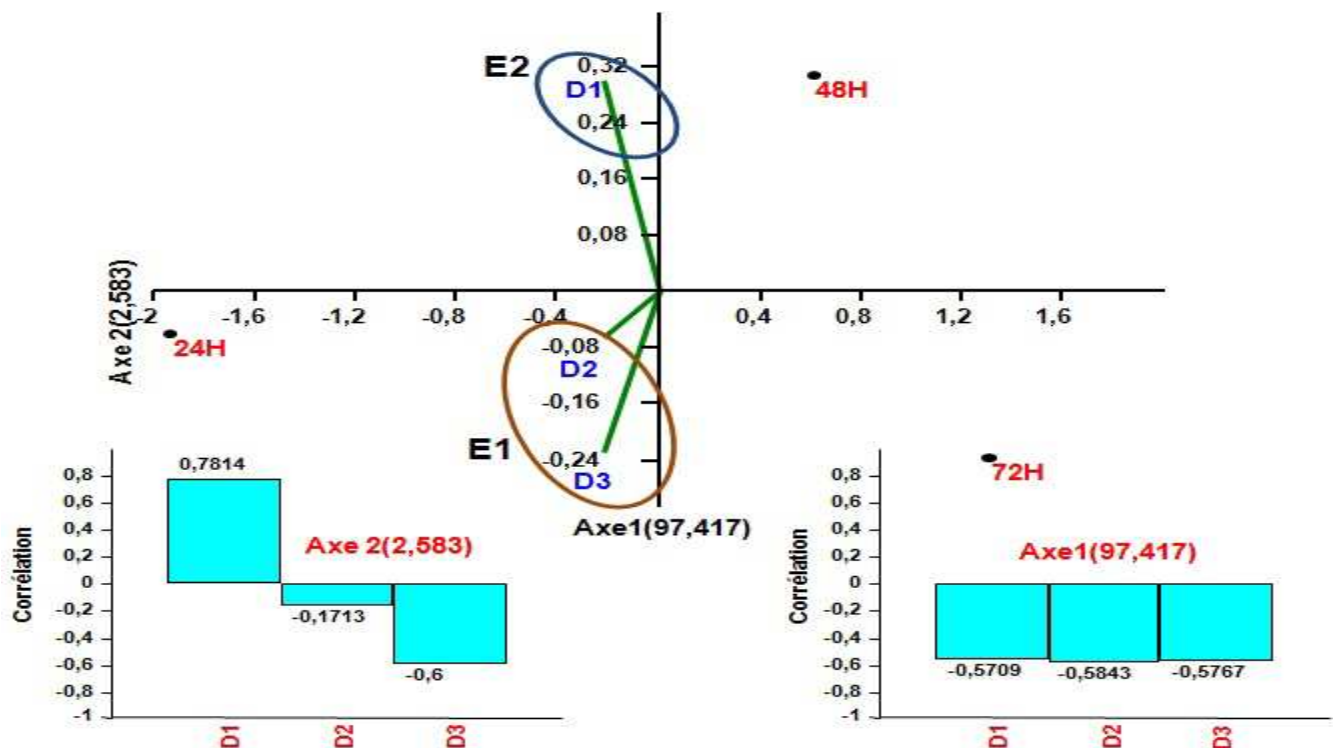
## 2-5 Variabilité de l'efficacité acaricide sur l'acarien *Varroa destructor*

Pour chacune de méthode de traitement de l'huile essentielle de citron, nous avons comparé les taux de la population résiduelle en effectuant une A.C.P. Dans les deux cas, une synthèse de la variabilité de l'huile essentielles et de chaque dose appliquée a été effectuée.

Sur les deux doses des trois étudiées, nous observons une séparation des enveloppes correspondant à l'effet biocide du traitement. Pour l'effet précoce, nous observons un chevauchement de l'abondance de la population, tandis que celle des périodes de 48h et 72h sont toujours réparties vers le côté positif de l'axe 1 (Fig.51).

Nous observons une séparation des enveloppes correspondant à l'effet précoce, ainsi qu'un chevauchement de la population résiduelle.

L'enveloppe 1 (effet précoce), l'effet de la forte dose (D3) et de la moyenne dose (D2) se différencient de la faible dose (D1). L'huile essentielle de l'écorce de citron semble avoir un effet sur l'acarien testé. En revanche, les faibles doses (D1) de l'huile essentielle supposent avoir un effet répressif sur les sujets testés.



**Fig.51** : Projection de l'effet acaricide de l'huile essentielle sur les axes 1 et 2 des A.C.P.

### **CHAPITRE IV. MATERIEL ET METHODES**

#### **1- Objectifs du travail**

L'objectif de notre travail consiste à déterminer l'effet acaricide à base de l'huile essentielle du *Citrus limonum* sur le parasite « *Varroa destructor* » à différentes concentrations soit (25%, 50%, 75%), afin d'estimer le niveau d'infestation et d'évaluer l'efficacité de ce traitement pour la mise en place d'une nouvelle stratégie de lutte biologique qui permettra de neutraliser le parasite et de tracer un programme de sélection.

#### **2- Présentation de la région**

##### **2-1 Situation géographique et administrative**

part de sa situation géographique, La wilaya de Blida se situe au versant nord de l'Atlas Tellien qui protège la ville des vents secs du sud en provenance des hauts plateaux. Et à 140 m d'altitude et par une pente orienté vers le nord. Elle est limitée.

- Au nord par la wilaya d'Alger et Tipaza
- Au sud par la wilaya de Médéa
- A l'Est la wilaya de Boumerdés et Bouira
- A l'Ouest la wilaya d'Ain-defla

##### **2-1-1 Le relief**

La wilaya de Blida s'étend sur une superficie de 1696 km<sup>2</sup> se compose d'une importante plaine et d'une chaîne de montagnes au sud.

- La plaine de la Mitidja, qui s'étend d'Ouest en Est, est une zone agricole riche, on y trouve des vergers, apiculture, agrumes, arbres fruitiers, vigne et encore des cultures industrielles.
- Zone de l'atlas blidéen et le piémont, la partie centrale de l'Atlas culmine à 1600 m, de forêts de cèdre s'étend sur des montagnes, de piémont dont l'altitude varie entre 200 et 600 m présente des conditions favorables au développement agricole.

### **2-2 Le milieu physique**

#### **2-2-1 Climat de la région**

##### **2 -2-1-1 La température**

La température est un élément écologique fondamental en tant que facteur climatique vital et déterminant dans la vie des végétaux. Elle conditionne en effet la durée de la période de végétation.

Selon (Ramade, 2003) la température représente un facteur limitant de toute première importance car elle contrôle l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'êtres vivants dans la biosphère.

Il ressort de l'évaluation des températures les différentes saisons à savoir :

- Hivers rigoureux ayant une température moyenne de 12°C max et 04°C min. (Janvier le mois le plus froid).
- Etés chauds ayant une température moyenne de 33°C max et 18°C mn. (Juillet le mois le plus chaud).
- Printemps assez ventilé

##### **2-2-1- 2 Les précipitations**

La pluviométrie annuelle moyenne varie entre 600 mm et 815 mm (SLTZER). Elle est généralement importante dans les montagnes que dans la plaine.

Les précipitations sont plus importantes au mois de décembre et janvier.

##### **2-2-1- 3 Les vents**

- Vents d'Ouest et Nord-Ouest. (en hiver)
- Vents Nord-est adoucissant le climat durant les périodes chaudes. (en été)
- Siroco (surtout en mois d'Aout)
- Vent du nord et du Nord-est (au printemps)

### **3- Présentation de la coopérative (Lieu de l'expérimentation)**

La coopérative apicole de la Wilaya de Blida (Lieu de l'expérimentation) fut créer le 06 Aout 1977 et ce conformément à l'ordonnance 72.23 du 07 Juin 1972 relative au statut général de la coopération agricole et du décret 72.155 du 27 Juillet 1972 portant



## Matériel et méthodes

---

statut type de la coopérative agricole de services spécialisés d'où elle tire sa dénomination de coopérative agricole de services spécialisés en apiculture (CASSA).

Après la restructuration du secteur agricole suivant la loi 87.19 du 1987. Est venu le décret 88.170 du 13.09.1988 portant statut type de la coopérative agricole de services conformément à ce décret : les apiculteurs de la wilaya de Blida réunis en assemblée générale le 13 Juin 1989 ont constitué la nouvelle coopérative et acquis le patrimoine de l'ancienne coopérative en gardant la même dénomination.

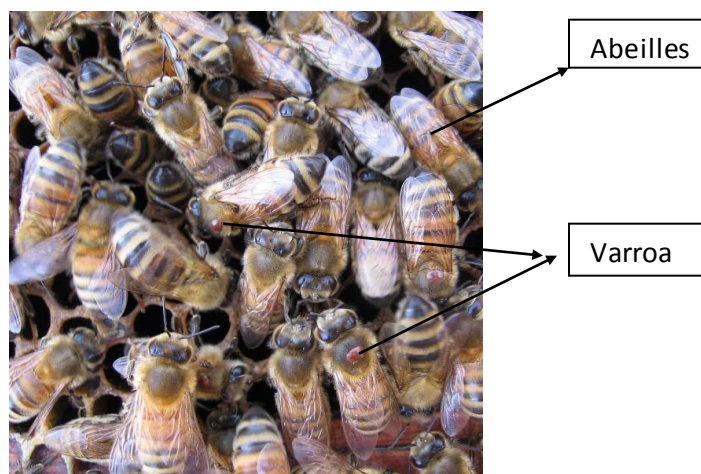
### 3-1- Le milieu naturel

#### 3-1-1- Le matériel animal

- **Les abeilles** (L'espèce hôte)

Le protocole expérimental a consisté l'utilisation de 12 ruches voir 12 colonies d'abeilles de l'espèce *Apis mellifera intermissa* espèce algérienne tellienne qui se caractérise par une agressivité, forte fécondité, tendance à l'essaimage, vulnérable au maladies.

- **Le parasite** L'acarien ectoparasite de l'abeille *Apis mellifera* *Le varroa destructor*



**Fig.27** : Abeilles infestées par le varroa (originale)



**Fig.28** : Le dispositif expérimental (original)

### 3-1-2 Matériel végétal

Le produit ayant servi à l'extraction des huiles essentielles est la partie écorce du zeste de citron (*Citrus limonum*). Ce choix est justifié par la richesse du zeste en huiles essentielles par rapport aux autres parties du fruit (Robert et Lobstein, 2005 ; Lucheroni, 1996).

## 4- Methodologie de travail

### 4-1- Extraction des huiles essentielles

La partie pratique consiste à l'extraction des huiles essentielles, la réalisation de ce volet a été effectuée du 22 Mai au 15 juillet 2013 au niveau du laboratoire de l'Institut de chimie industrielle (Université de Saâd Dahleb)

#### 4-1-1 Collecte du fruit de citron

La récolte du citron a été effectuée sur deux arbres qui n'ont subis préalablement aucun traitement chimique (jardin familial), cette opération s'est déroulée à la fin du mois de mai 2013 au niveau de la région de la wilaya de Blida (Algérie).

L'« Euréka » est la variété du citron qui a servi à notre étude, cela s'explique par son abondance par rapport aux autres variétés existant en Algérie. De 1990 à 2009, la production moyenne du citron est de 112,1 qx/ha sur 526,6 qx/ha de la production totale des agrumes (DSA, Blida).

Le fruit utilisé se caractérise par une forme ovale, de couleur jaune et verdâtre, l'écorce est molle, moyennement fine, son épaisseur est d'environ 2 mm d'épaisseur.

## Matériel et méthodes

Le poids moyen des fruits du citron pesés à l'aide d'une balance de précision est de 6000 g (6 kg) et le poids moyen de son zeste est de 990 g.

Le citron ainsi utilisé pour l'extraction des huiles essentielles a préalablement subi un lavage, une élimination des taches et un essuyage.



**Fig. 29:** Préparation du zeste de citron pour l'extraction (originale)

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité
- La solubilité
- La taille et la forme des molécules constitutives
- L'adsorption

### 4-1-2 Méthode d'Extraction par entraînement à la vapeur

Technique la plus utilisée, le montage est constitué de deux ballons un qui est rempli d'eau distillée chauffée jusqu'à l'ébullition, l'autre avec des petits morceaux du zeste de citron, le montage est relié directement à un coude réfrigérant de type serpent.

Suite à l'intervention de la vapeur générée par l'eau en ébullition à une certaine température dans les procédés mécaniques (l'eau traverse la matière végétale) pendant 90 mn, entraîne le produit libéré des alvéoles oléifères (les molécules aromatiques).

## Matériel et méthodes

---

On observera ensuite petit à petit la condensation au niveau du réfrigérant la formation de gouttelettes. Nous récupérons un liquide jaunâtres c'est « l'hydrolat » riche en essences ou huiles essentielles recueillies dans une ampoule à décanter, l'eau et l'HE se séparent par le procédé physique « différence de densité » selon (Peyron et Richard, 1992 ; Werner, 2002).

Afin de séparer les deux phases «l'huile essentielle et l'hydrolat » qui se distingue par une couche fine flottant à la surface. L'utilisation d'une burette permet la séparation «goute à goutte» pour récupérer de l'huile essentielle pure sans aucun produit chimique.

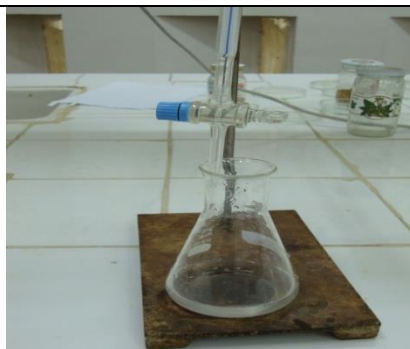
La phase organique d'HE est récupérée puis conservées dans des tubes opaques en verre recouverts avec du papier aluminium car l'HE est photosensible et s'altérant a la lumière, préservée à une température oscillant entre 5 et 20°C.



**Fig.30** : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau au laboratoire de chimie industrielle» (originale)



**Fig.31** : Hydrolat récupéré dans une fiole



**Fig.32** :Burette pour la séparation d'HE de l'hydrolat (originale)



**Fig.33** : Collecte de l'huile essentielle du citron complètement Bio (originale)

### 4-1-3 Détermination de rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre le poids d'huile essentielle obtenue et le poids la biomasse du matériel végétal à traiter, le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule est la suivante :

$$R\% = P1 / P2 \times 100$$

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

**P1** : poids de l'huile essentielle en g

**P2** : poids de zeste du citron en g

### 4-1-4 Cinétique d'extraction de l'Huile essentielle

La cinétique d'extraction consiste à déterminer le rendement en fonction du temps d'extraction. Elle a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes du temps et d'énergie (Bachelot *et al.*, 2006).

### 4-2 La chromatographie en phase couplée «CG/SM»

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse s'est effectuée à l'Ecole Militaire Polytechnique ex « INITA » de Bordj El behri (Alger). Cette méthode d'analyse consiste à combiner les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

#### 4-2-1 La chromatographie en phase gazeuse

Elle permet la séparation des substances selon leur volatilité.

#### 4-2-2 La spectrométrie de masse

Les substances séparées par la CG sont ensuite fragmentées dans la trappe à ions de la spectrométrie de masse qui permet de les identifier grâce au fragment et à leur masse moléculaire.

L'appareil de la chromatographie gazeuse est de type :

- 1- Perkin-Elmer Clarus 600 pour la chromatographie
- 2- Perkin-Elmer Clarus 600 c pour le spectromètre



**Fig. 34** : Le chromatographe (original)

Il est principalement composé :

- D'un **four** (type chaleur tournante) qui permet une programmation de température ajustable de 20 °C (-100 °C pour certains systèmes) à 450 °C et qui est également équipé d'un système de refroidissement rapide.
- D'un **système d'injection** qui va permettre d'introduire et de rendre volatil l'échantillon à analyser. L'injection peut se faire d'une manière manuelle avec

## Matériel et méthodes

---

une micro-seringue ou automatique à l'aide d'un échantillonneur, la quantité injectée d'HE de citron est de 0,5  $\mu$ l.



**Fig. 35** : La seringue du chromatographe (original)

- D'une **colonne** chromatographique cœur du système d'analyse (*capillaire ou remplie*) qui peut faire plus de 50 mètres, sur laquelle les différentes molécules de l'échantillon injecté vont se séparer suivant leurs affinités avec la phase stationnaire;



**Fig.36** : La colonne du chromatographe (Original)

- D'un **système de détection** qui va permettre de mesurer le signal émis par les différentes molécules et de pouvoir les identifier. Pour l'enregistrement du signal émis par le détecteur, des logiciels sur PC remplacent avantageusement les enregistreurs analogiques sur papier.
- D'un **système de détendeur-régulateur** pour les gaz utilisés (hélium, hydrogène, azote et air comprimé). Sur les chromatographes modernes, on trouve des systèmes électroniques pour la régulation des gaz qui sont également purifiés par des cartouches filtrantes.

### 4-3 La dilution de l'huile essentielle du citron (le 10.09.2013)

Cette opération s'est également déroulée au niveau du laboratoire de l'institut de chimie industrielle.

Suite à l'extraction de l'huile essentielle du citron nous avons entamé une deuxième étape qui est la dilution de l'huile essentielle à différentes doses. Nous avons ajouté un tensioactif le « Tween 80 » dilué à 3% , il permet l'émulsion de la couche mince de HE du citron avec de l'eau distillée. Notre travail nécessitait une balance de précision pour peser les produits ( Tween, eau distillée, HE).

Trois grammes de tensioactif (Tween 80) ont été pesés à l'aide d'une balance de précision puis nous avons complété et ajusté avec de l'eau distillée, pesée pour arriver à 100 % de la solution Tween diluée. (Le volume d'eau égale le poids d'eau).



**Fig. 37:** Le tensioactif « Tween 80 » dilué à 3% par H<sub>2</sub>O

À son tour l'huile essentielle du citron a été pesée à différentes doses voir (0,25, 0,50, 0,75) mg et diluée avec la solution obtenue préalablement « Tween + H<sub>2</sub>O » complétée et ajustée jusqu'à 100 % pour chaque dose.



**Fig. 38 :** HE diluée à différentes doses D1, D2, D3 soit (25, 50, 75)%



### 4-4 Application du traitement (le 16.09.2013)

Notre dispositif expérimental est disposé comme suite 12 ruches alignées en une seule rangée dont 9 d'entre elles ont subi un traitement à base de l'HE de citron pulvérisée à différentes doses D1, D2, D3 sachant que chaque dose comprend 3 ruches (trois répétitions de la même dose). Par ailleurs les 3 autres qui restaient sont considérées comme ruches témoins «sans aucun traitement».

L'application du traitement a été réalisée sur tous les cadres à raison de 30 ml spécialement ceux du milieu où se trouve le couvain à l'aide d'un pulvérisateur, les colonies sont traitées une seule fois.



**Fig. 39** : Application du traitement à base de l'HE au rucher

La difficulté de la lutte contre la varoïse repose sur la détermination de la période d'application du traitement, nécessitant de bonnes connaissances relatives à la biologie de l'abeille et de l'acarien.

Le premier traitement doit impérativement être réalisé entre « LA fin août et début de septembre » dès la dernière récolte de miel, Il doit être d'une excellente efficacité. Le but étant de réduire au maximum l'infestation du couvain, et de garantir un potentiel de survie optimale, afin d'obtenir un développement normal des abeilles assurant l'hivernage (Colin, 1989).

### 5- Méthode d'estimation du niveau d'infestation par *V.destructor*

#### 5-1 Méthode dite des « langes »

La méthode dite « des langes » consiste à comptabiliser le nombre de *V. destructor* tombés naturellement sur un lange graissé placé sur le sol d'une ruche qui recueille tout ce qui tombe des rayons. Nous avons protégé les langes par une grille fine. De crainte que les abeilles qui sont très actives les nettoient.

Le varroa récolté au fond de la ruche montre une corrélation entre la chute naturelle du nombre journalier du *varroa destructor* et la population totale d'acariens au sein d'une colonie (Faucon *et al.*, 2007 ; Branco *et al.*, 2006 ; Charrière *et al.*, 1998). Pour augmenter la fiabilité de cette méthode, nous avons établis une moyenne des chutes journalière sur un intervalle de temps de 3 jours, voir 24h, 48h, 72h.

L'avantage de la méthode d'estimation du niveau d'infestation par comptage des *V. destructor* trouvés au fond de la ruche est qu'elle est peu fastidieuse comparée aux autres méthodes. Elle est également non destructive et peut être mise en place par les apiculteurs eux-mêmes. Cette estimation reste toutefois très imprécise. En effet de nombreux paramètres, notamment environnementaux peuvent influencer sur le résultat (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007).

En outre, cette méthode semble fiable uniquement pour des colonies qui ne sont pas en phase d'effondrement (Branco *et al.*, 2006 ; Lobb et Martin, 1997).



**Fig. 40** : Methode d'estimation du varroa (dite des langes)

Selon l'échelle d'évaluation selon (Martin, 1998 b) Il existe une forte corrélation entre la chute de *V. destructor* et l'émergence du couvain d'abeilles. Suite à la difficulté de faire un comptage au sein d'une colonie d'abeilles vu le (vol, les piqûres, la sortie des butineuses) nous avons fait recourt à *In Vitro*.

Au sein de la coopérative de la Chiffa nous avons essayé de récupérer des abeilles sur un autre dispositif qui n'était pas traité cette année on les attirant avec du miel devant chaque ruche.

## Matériel et méthodes

Le dispositif expérimental était comme suite :

360 abeilles réparties sur 12 boîtes de pétri voir 30 abeilles infestées par le varroa dans chaque boîte que nous avons sélectionné pour le traitement *in vitro*.

Le même traitement a été appliqué, 3 différentes doses de l'huile essentielle du citron à (25, 50, 75)% ont été pulvérisées sur les boîtes de pétri à raison de 3 ml /boîte sur un intervalle de temps de (24h, 48h, 72h).



**Fig.41:** Application du traitement sur les abeilles *in vitro* (originale)

Le traitement a été réalisé à l'aide d'un pulvérisateur manuel, d'une capacité de 50 ml. Ce matériel a été utilisé pour l'ensemble des traitements en prenant soin de le laver avant et après chaque utilisation.

Nous avons compté le nombre de varroa mort après le traitement soit *In situ* soit *In vitro* à l'aide d'une loupe.



**Fig.42 :** Comptage du varroa sur les boîtes de petri

## 6- Analyse statistique des résultats

### 6-1 Analyses multi-variées (PAST vers. 1.37,).

Dans le cas de variables de type présence-absence, les relations multivariées sont étudiées à l'aide d'une analyse factorielle des correspondances en composantes principales (A.C.P.). Dans cette analyse, l'activité biocide est évaluée selon le stress opéré sur les individus de *Varroa destructor*. A partir des deux

premiers axes de l'analyse factorielle, une classification ascendante hiérarchique des périodes est réalisée dans le but de détecter l'activité précoce et tardive des différentes doses.

### **6-2 Analyses de la variance (SYSTAT vers. 7, SPSS 2009)**

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (Types de formulations, dose du principe actif, temps d'expression de l'effet biocide, etc...), il est préconisé de réaliser une analyse de variance. Dans les conditions paramétriques, la distribution de la variable quantitative doit être normale. Dans certains cas, une transformation logarithmique a été nécessaire afin de normaliser cette distribution.

Dans les cas où aucune transformation ne parvient à normaliser la distribution, au cas où plusieurs facteurs sont en jeu, il peut arriver que toutes les interactions entre facteurs ne soient pas pertinentes à tester. Nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (G.L.M.).

On a essayé dans ce chapitre de grouper tous les résultats correspondants aux comportements toxicologiques du bioproduit à base de l'huile essentielle du citron sur le taux de mortalité du varroa *In situ* et sur la population résiduelle *In vitro*.

### CHAPITRE I : Présentation de l'abeille

#### 1- Généralités

Les abeilles sont des animaux invertébrés, le genre *Apis* comprenant plusieurs espèces, appartiennent à l'ordre des Hyménoptères qui englobe des insectes sociaux (Biri, 2002). Quelques-unes d'entre elles telle que, *Apis mellifera* ou abeilles mellifère ont été domestiquées par l'homme pour leurs productions en miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis, de la cire et dans certain cas du venin (Caillas, 1986).

La colonie d'abeille est qualifiée de monogyne c'est-à-dire elle ne contient qu'une seule reine, une colonie d'abeilles domestiques compte de 40.000 à 60.000 individus durant la belle saison et chute à 15.000 voir 5000 en hiver (Choquet, 1992). La colonie s'organise dans le temps et dans l'espace afin de subvenir aux besoins des individus qui la constituent et chacun d'eux participe activement à la vie collective (Jean-Prost, 1987).

#### 2- Classification systématique de l'abeille

<b>Embranchement :</b>	Arthropoda
<b>Sous-embranchement :</b>	Hexapoda
<b>Classe :</b>	Insecta
<b>Sous-classe :</b>	Pterygota
<b>Infra-classe :</b>	Neoptera
<b>Super-ordre :</b>	Endopterygota
<b>Ordre :</b>	Hymenoptera
<b>Sous-ordre :</b>	Apocrita
<b>Infra-ordre :</b>	Aculeata
<b>Super-famille :</b>	Apoidia
<b>Famille :</b>	Apidae
<b>Sous-famille :</b>	Apinae
<b>Tribu :</b>	<i>Apini</i>
<b>Genre :</b>	<i>Apis</i>
<b>Sous-genre :</b>	<i>Apis</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Apis mellifera</i>
<b>Sous-espèce :</b>	<i>Apis. Intermissa. m</i>

(Douhet et al, 1977)

### 3- Composition de la colonie d'abeilles

Chaque colonie (Fig.1) est composée de :

- Trois castes d'abeilles adultes : les femelles (La reine, les ouvrières) et les mâles ou les faux bourdons (Ravazzi, 2007).
- Le couvain : L'ensemble des œufs, des larves et des nymphes des abeilles.

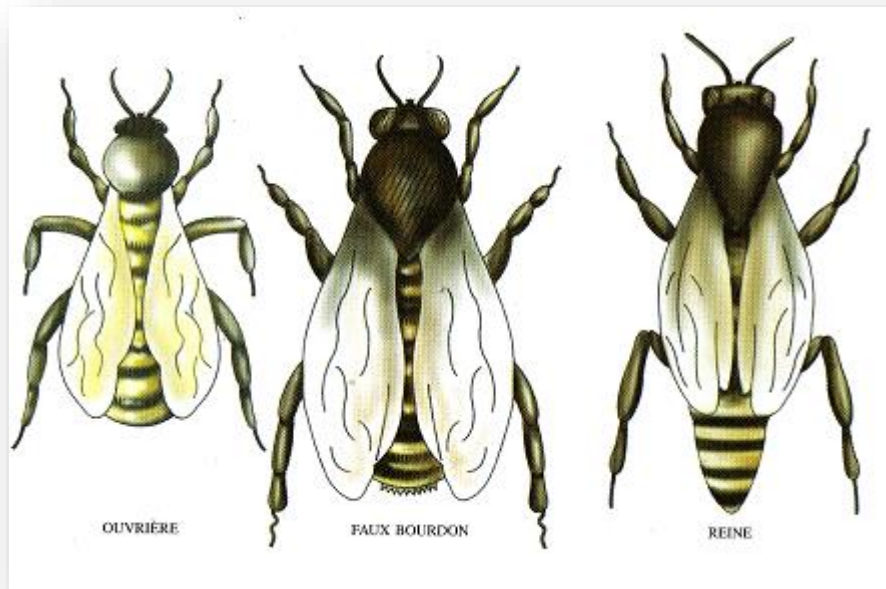


Fig. 1 : Les trois différentes castes des abeilles (Ravazzi, 2007)

#### 3- 1- Les femelles

Les œufs fécondés, diploïdes ( $2n=32$ ) engendrent soit des reines qui possèdent des organes reproducteurs, soit les ouvrières ne se reproduisant pas en présence de la reine (Fries et Camazine, 2001).

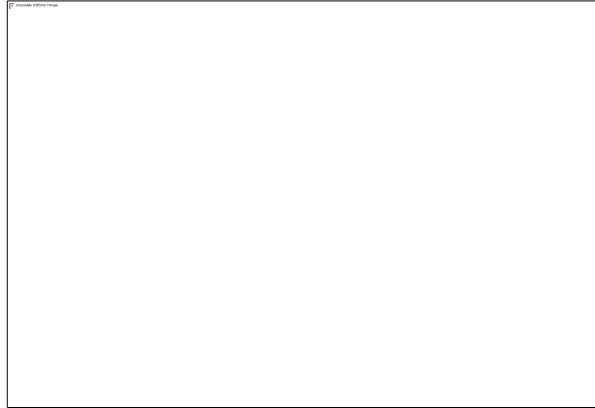
##### 3-1-1 La reine

La reine ou (la mère) joue un rôle fondamental dans la vie de la colonie, jeune, vigoureuse et en bonne santé, seule femelle fertile de la colonie (Gout, 1991). Du point de vue morphologique la reine se distingue nettement des ouvrières et des faux bourdons, elle mesure 18 à 22 mm de long et son thorax atteint 4.2 mm de diamètre, elle diffère également des autres castes par la couleur (brique ou bien trop foncé), son abdomen est monochrome et non pas rayé, elle a des ailes courtes et des pattes dépourvues d'outils, plus longues que celles des ouvrières, son appareil buccale est lui aussi réduit à sa longueur plus courte (Gustin, 1984). Par ailleurs elle n'utilise pas son aiguillon que contre les sujets de la même caste, on les tuant alors qu'ils se

## Partie bibliographique

---

trouvent dans leur cellule ou au court des duels typiques de la période d'essaimage. Le dard de la reine, souvent appelé « stylé royal » dans la mesure où il est planté, puis extrait il ne provoque pas la mort de l'insecte. (Zahradnik, 1991).

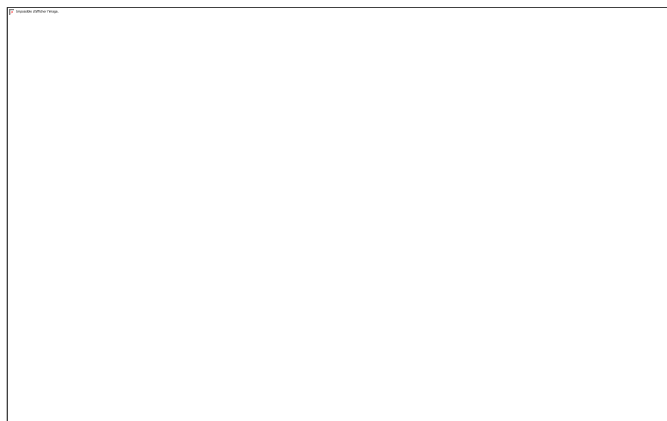


**Fig. 2 : La reine des abeilles (Anonyme, 2012a)**

### 3-1-2 Les ouvrières

Les ouvrières se révèlent tout aussi importantes dans une colonie, elles représentent la très grande majorité de la population, possèdent des capacités physiologiques et comportementales importantes car c'est elles qui assurent les différents travaux au sein de la ruche, une organisation particulière observée (Fig. 3).

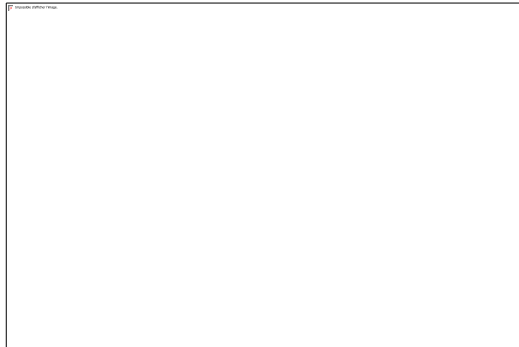
Elles mesurent environ 12 à 13 mm de long, thorax 4 mm de diamètre, longueur de la langue de l'ouvrière est de 5.5 à 7 mm, pattes dotées de brosses et d'une corbeille pour récolter le pollen, entre autre les glandes qui produisent la cire et qui permettent de construire les rayons (Gustin, 1984).



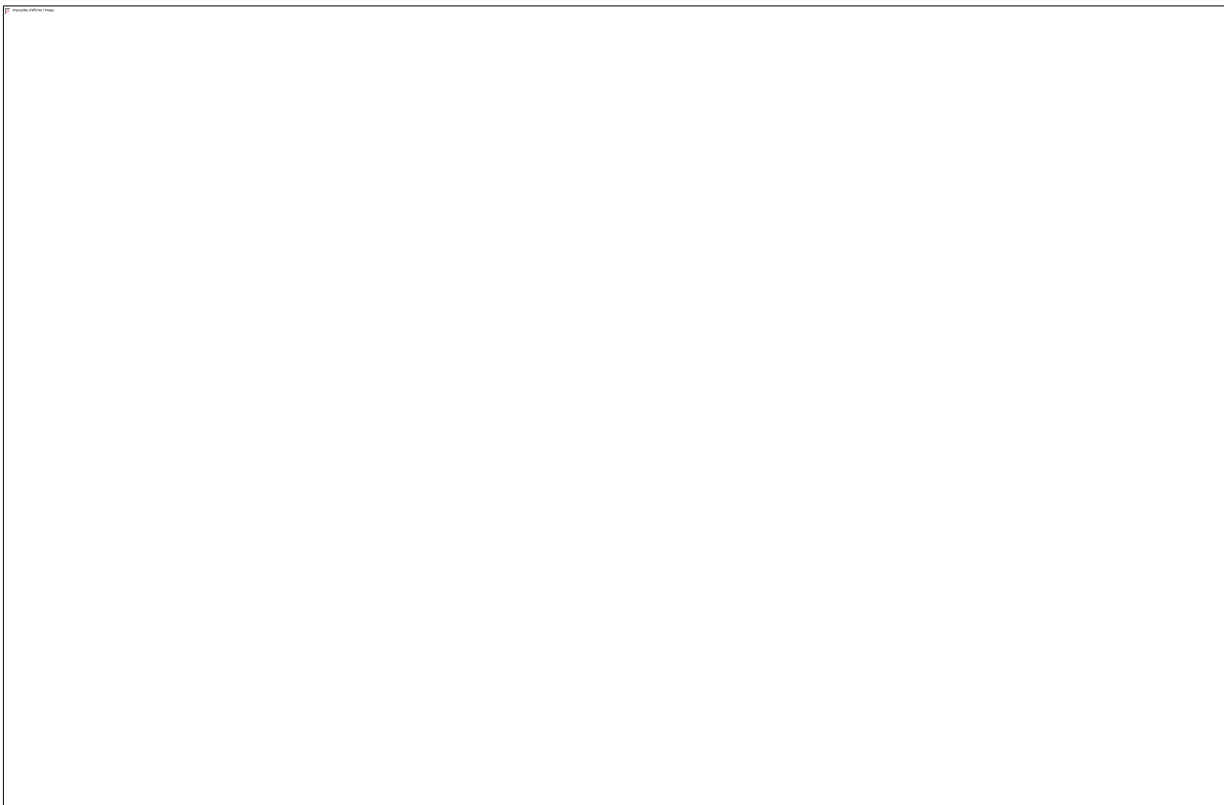
**Fig. 3 : Les ouvrières sur un cadre de couvain ouvert rempli d'œufs et de larves (Anonyme, 2012c)**

### 3-2 Les mâles (ou faux-bourçons)

Les faux bourçons sont des œufs non fécondés pondus par la reine, haploïdes  $n=16$  (reproduction parthénogénétique) engendrent les mâles, les œufs déposés dans des alvéoles sont plus grands que les cellules des ouvrières. Les faux bourçons mesurent environ 15 mm de long et 5 mm de diamètre (Gustin, 1984). Ce qui explique qu'ils sont gros par rapport aux ouvrières. Ils sont velus et plus foncé, dépourvus d'aiguillons (Fig. 4).



**Fig. 4** : Les faux- bourçons (Anonyme, 2012c)



**Fig .5** : Détermination de la caste d'un individu dans une colonie d'abeille ( winston ,1993).



### 4- Ontogénèse de l'abeille

#### 4-1- Le couvain

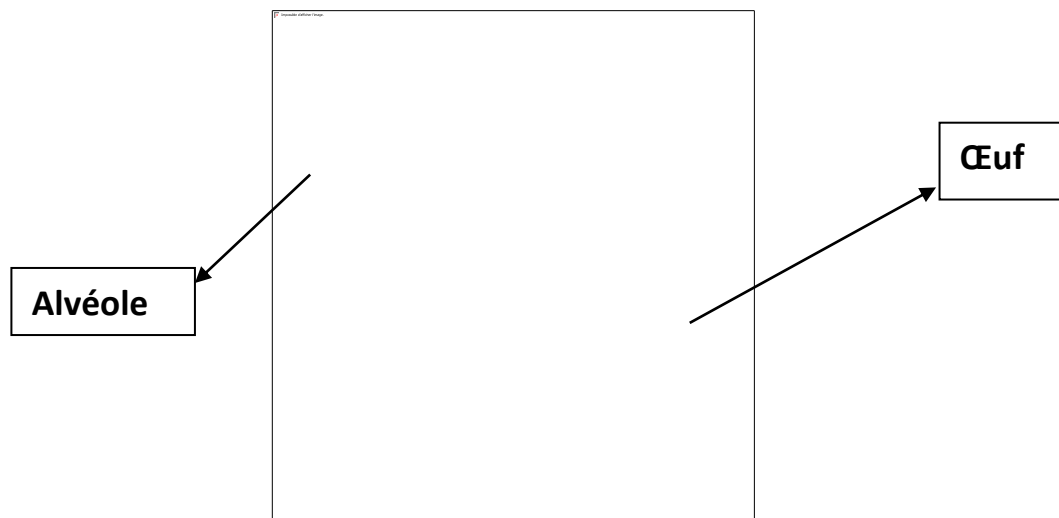
Le couvain, au sens propre, est l'ensemble des formes pré-imaginale de l'abeille présentes dans les alvéoles aboutissant à l'émergence d'un imago, quelque soit la caste. On observe toujours sept stades de développement pour le couvain d'abeilles ; le stade œuf, cinq stades larvaires et le stade nymphal. Toute fois le couvain inclus deux phases (Alphandery, 2002 ; Biri, 2002).

##### 4-1-1 Le couvain ouvert

Après le stade œuf, cinq stades larvaires se développent successivement dans le couvain ouvert, les larves étant alimentées et soignées par les abeilles nourrices jusqu'à l'operculation de l'alvéole.

###### a- Le stade œuf

Le cycle vital de l'abeille débute par un petit œuf : bâtonnet blanc mesurant environ 1,5 mm de long et 0,4 mm de diamètre que la reine dépose dans un alvéole, parallèlement aux parois de la cellule. L'œuf sera alors nourrit pendant les trois premiers jours par la gelée royale, ensuite alimenté par une bouillie faite par un mélange de miel, d'eau et de pollen. (Clément, 2006)

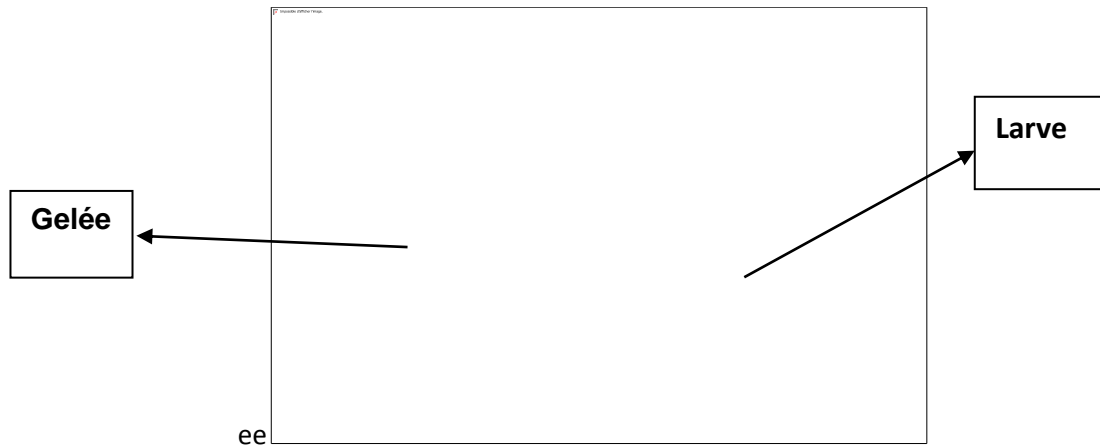


**Fig. 6** : Les œufs des abeilles (Anonyme, 2011c)

###### b- Le stade larvaire

Les larves sont apodes, blanchâtres, sans yeux (Fig. 7). Elles possèdent un appareil buccal simple qui va permettre la prise de nourriture fournie par les ouvrières

sous forme d'une gelée ou d'une bouillie. Elles baignent dans la gelée larvaire (post-émergence) (Winston, 1993).



**Fig. 7 :** Larves baignant dans la gelée royale (Anonyme, 2011)

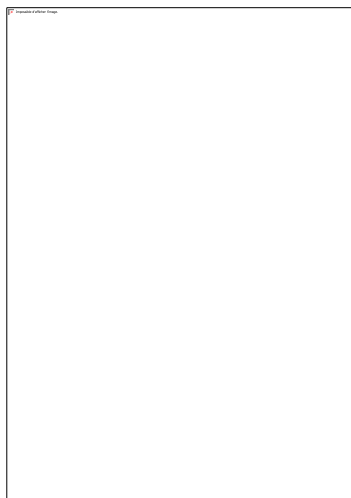
### 4-1-2 Le couvain operculé

La forme imaginaire pré-émergence contenu dans les alvéoles du couvain operculé.

#### a- Les nymphes

Au stade nymphal, la tête, les yeux, les antennes, les pièces buccales, le thorax, les pattes et l'abdomen possèdent les caractéristiques de l'adulte (Fig. 8).

Nymphe aux yeux blancs recueillie dans du couvain de faux-bourdons. La nymphe initialement blanche va progressivement se pigmenter, ce qui va permettre d'estimer son âge (Rembold et *al.*, 1980).



**Fig. 8:** Stade nymphal (Windling, 2012)

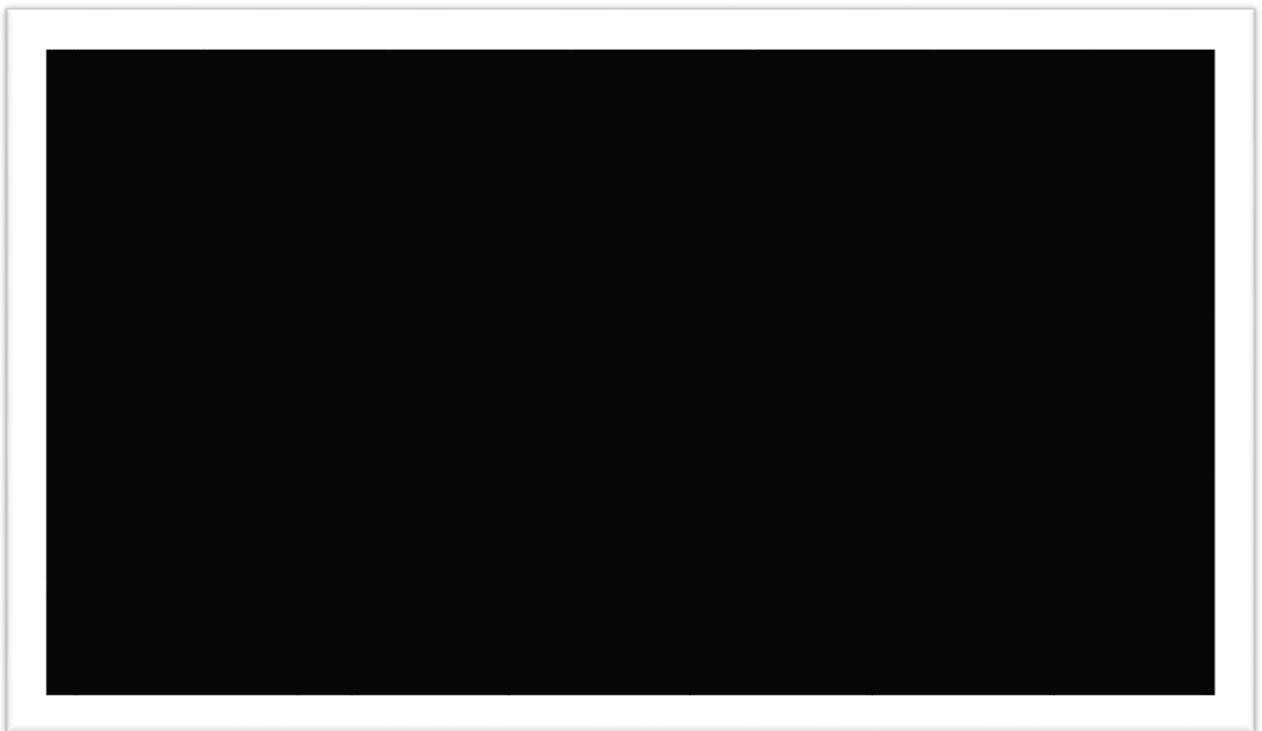
### b- L'imago et l'émergence

Après la mue imaginale, la jeune abeille adulte reste dans l'alvéole, durant 10 à 20 h. L'imago utilise ses mandibules pour perforer l'opercule de cire, la jeune abeille sort sa tête puis son corps et émerge. Une fois sur le rayon, l'imago étale ses ailes et antennes, laisse sécher les soies de son corps et entame ses activités (Windling, 2012).



**Fig . 9** : L'emergence de l'imago de la cellule royale ( jeune reine) (ITELV, 2010)

Suivant la caste, la durée de développement du couvain varie. (Fig.10)

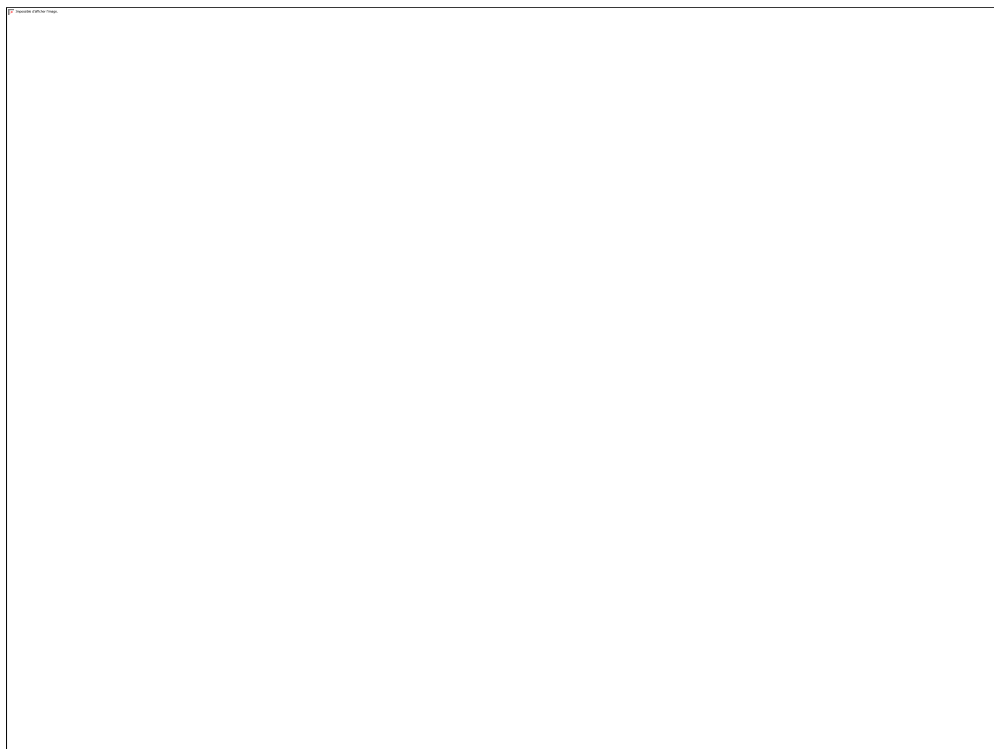


**Fig.10:** Le cycle de développement de la reine, de l'ouvrière et du faux bourdon en jours (Lafleche, 1991).

### 5- Morphologie des abeilles

Le corps de l'abeille est un corps d'un insecte parfait constitué d'un exosquelette de chitine formé d'une série de lamelles dures reliées entre elles par des membranes. L'enveloppe chitineuse, rigide qui fait en quelque sorte office de squelette, renferme les organes vitaux. Du point de vue morphologique, le corps se divise en trois parties, (Winston, 1993).

- La tête
- Le thorax
- L'abdomen



**Fig. 11** : Morphologie de l'abeille (Ravazzi, 2007)

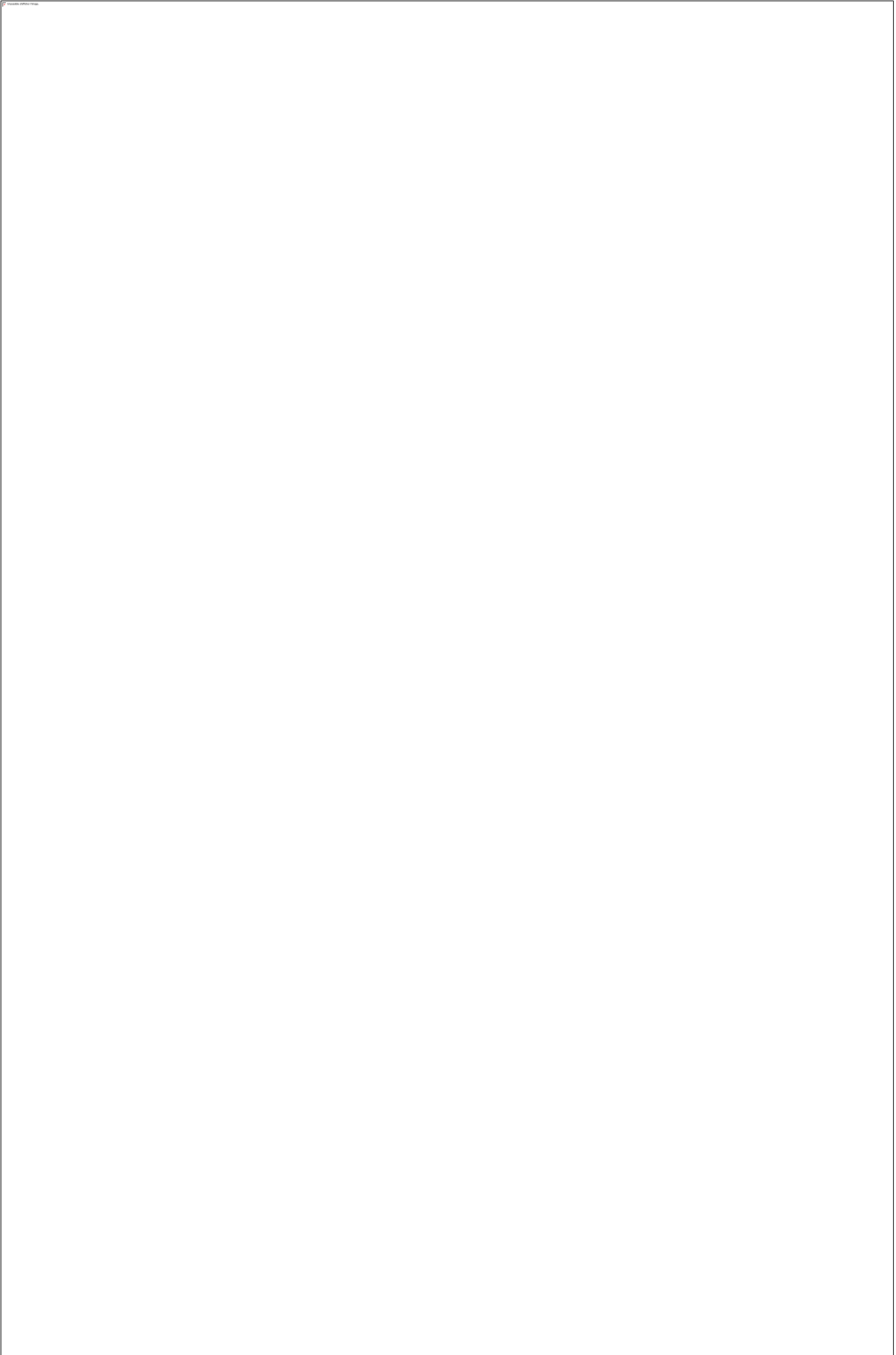
### 6- Phases du cycle du développement d'une colonie d'abeilles

Le cycle naturel d'une colonie est annuel et dépend fortement de la végétation disponible dans l'environnement. En régions tempérées, il débute au printemps. Quatre phases successives le caractérisent (Toma et al, 2009) (Fig. 12).

- une phase de développement
- une période d'essaimage
- une phase de préparation à l'hivernage
- une phase hivernale

## Partie bibliographique

---

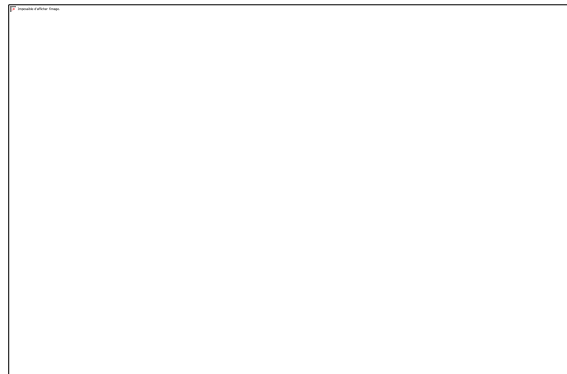


### 7- Les caractéristiques de l'abeille locale

L'Algérie étant un pays très vaste qui se caractérise par une grande diversité florale dont on distingue deux races différentes des abeilles réparties géographiquement selon le climat :

#### 7-1 La race tellienne (*Apis mellifica intermissa*)

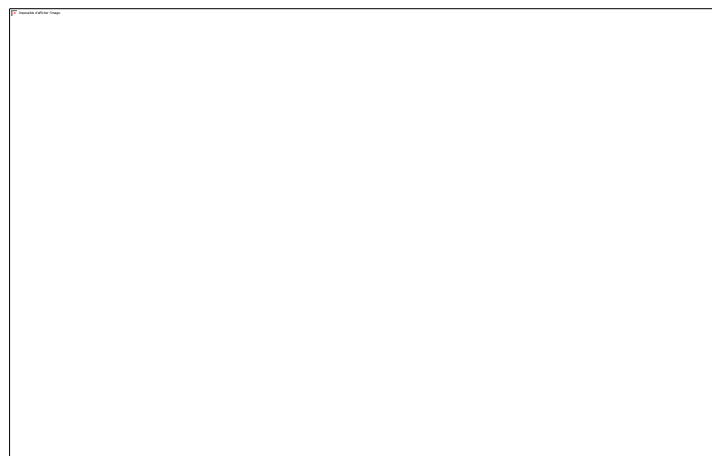
Cette abeille peuple la région située entre l'atlas et la méditerranée, connue sous le nom du Tell d'où elle tient son nom, de couleur noire avec de léger éclaircissement sur l'abdomen et le scutellum, son pelage est très court (Bougura et al, 1995).



**Fig. 13:** L'abeille tellienne (Anonyme, 2011)

#### 7-2 La race saharienne (*Apis mellifica sahariensis*)

L'abeille saharienne est l'une des races peuplant quelques ruchers en Algérie. Elle vit dans le sud-ouest algérien, plus particulièrement dans les Monts des Ksour à Ain Sefra, Mechria, Bechar et Beni- Ounif. Ce territoire, situé au sud du haut Atlas, en bordure de la frontière marocaine et du Sahara, possède des palmeraies arrosées par les oueds qui permettent malgré leur régime torrentiel, des cultures étendues (Fig. 14).



**Fig.14 :** L'abeille domestique *Apis mellifera* sahriensis (ITELV, 2010)

### **8 - Les principales maladies de l'abeille**

L'abeille domestique (*Apis mellifera*) est une espèce animale vivant en colonie. Pour cette espèce, contrairement aux autres espèces animales domestiques, la santé et les maladies s'apprécient essentiellement au niveau de la colonie et non pas de chaque individu.

Les abeilles et leur couvain peuvent être atteints de plusieurs maladies ou de parasites, dont les conséquences sont toujours graves. (Faucon, 1996) On distingue donc:

#### **8-1 Maladies de l'abeille adulte**

- Nosémosé
- Acariose
- Amibiase

#### **8-2 Maladies du couvain**

- Loque américaine
- Loque européenne
- L'aspergillose ou couvain pétrifié

#### **8-3 Maladies parasitaires**

- Fausse teigne (Albisetti, 1998).

### **9 - Causes de mortalité des colonies d'abeilles**

Les causes et les facteurs d'influence de la mortalité sont multiples : le vieillissement, la prédation, l'action anthropique, l'infestation, les conditions climatiques, la quantité et/ou la qualité des ressources nutritives (Alitru, 2008 ; Haubruge et al., 2006).

On peut distinguer cinq catégories de causes de mortalité des colonies d'abeilles :

- Les agents biologiques
- Les agents chimiques
- L'environnement
- Les pratiques apicoles
- Les autres causes

#### **9-1 Agents biologiques**

Les agents biologiques ont été classés par ordre de taille (prédateurs, parasites, champignons, bactéries et virus).

## Partie bibliographique

Deux tableaux synthétiques résument les principales caractéristiques des maladies, Le tableau.1 et Le tableau.2, respectivement.

**Tableau N° 1:** Signes cliniques et l'importance des maladies d'abeilles provoqués par les prédateurs, parasites, champignons, et bactéries

Agent pathogène	Maladie ou nom commun	Nature de l'agent	Type de population	Signes cliniques	Importance de la maladie	Prédateurs	Parasites	Champignons			
						Abeille adulte	Couvain	Vol stationnaire des colonies	Altération des ruches et pertes des colonies	Abeilles trainante, abeilles à Taux élevé de mortalité	Abeille paralysée ou /et Raccourcissement de la
<i>Vespa velutina</i>	Freulon asiatique (guêpe)	Insecte hyménoptère	Oui	Non	Non	Affaiblissement des colonies	Pertes des colonies	Taux élevé de mortalité	Raccourcissement de la	Dépeuplement et diminution de	<u>Affaiblissement de la colonie</u>
<i>Galleria mellonella</i>	Fausse teigne	Insecte lépidoptère	Non	Oui	Oui						
<i>Varrora destructor</i>	Varroase	Acarien mésostigmaté	Oui	Oui	Oui						
<i>Acarapi woodi</i>	Acariose	Acarien trombidiforme	Oui	Oui	Oui						
<i>Noséma apis</i>	Nosémose	Microsporidie	Oui	Oui	Oui						
<i>Ascosphaera apis</i>	<u>Ascospérose (couvain plâtré)</u>	<u>Champignon ascomycètes</u>	Non	Oui	Oui						



## Partie bibliographique

		Affaiblissement des colonies	Pertes des colonies déjà affaiblies	Taux élevé de mortalité hivernale.	Raccourcissement de la durée de	Dépeuplement et diminution de la force	<u>Affaiblissement de la colonie</u>
Importance de la maladie		Vol stationnaire des	Altération des ruches et des	Abelles trainante, abeilles à	Abeille paralysé e ou /et	Difficultés de vol, abdomen	<u>Larves d'abeilles mortes</u>
Signes cliniques	Couvain	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	<u>Oui</u>
Type de population	Abeille adulte	Oui	Non	Oui	Oui	Oui	<u>Non</u>
Nature de l'agent		Insecte hyménoptère	Insecte lépidoptère	Acarien mésostigma	Acarien trombidiforme	Microsporidie	<u>Champignon ascomycètes</u>
Maladie ou nom commun		Frelon asiatique (gûepe)	Fausse teigne	Varroase	Acariose	Nosémose	<u>Ascospéroscouvain</u>
Agent pathogène		<i>Vespa velutina</i>	<i>Galleria mellonella</i>	<i>Varrora destructor</i>	<i>Acarapi woodi</i>	<i>Noséma apis</i>	<u>Ascospéroscouvain</u>
		Prédateurs		Parasites		Champignon	

(AFSSA, 2008)

## Partie bibliographique

**Tableau N° 2** : Principaux virus de l'abeille ainsi que l'impact supposé ou démontré des viroses sur la santé des colonies et les symptômes décrits sur la ruche

Virus	Infection expérimentale	Conséquences de la virose et symptômes
Virus de paralysie aiguë (ABPV, Actue Bee Paralysis Virus)	Symptômes de paralysie précoce (2 à 4 jour), mortalité rapide (3 à 5 jours)	Participation aux affaiblissements, associés au varroa en entraînant des mortalités des ouvrières et de couvain
Virus des ailes déformés (DWV, Deformed Wing Virus)	Déformation des ailes et du corps d'abeilles naissantes	Participation aux affaiblissement, associés à Varroa en la mortalités des ouvrières et des déformations d'abeilles naissantes
Virus de la paralysie aiguë (IAPV, Israeli Actue paralysis Virus)	Mortalité rapide (4 jours) sans symptômes	Participation aux affaiblissements, associés au Varroa

(AFSSA, 2008)

### 9-2 Agents chimiques

Les abeilles peuvent être exposées, comme l'ensemble des organismes vivants, aux divers agents chimiques susceptibles d'être présents dans l'environnement. Dans les zones cultivées, la majeure partie des agents chimiques constituant cette exposition appartient à la catégorie des produits phytopharmaceutiques, encore appelés produits phytosanitaires ou pesticides. (Alix ;Delos ; Mercier, 2008 b).

Un produit phytopharmaceutique correspond à tout produit visant à protéger une culture des dégâts d'un organisme nuisible. (Albissiti, 1998). De par son mode d'action, un produit phytopharmaceutique est, en principe, spécifique d'un type de cible : fongicides, herbicides, insecticide, nématicides, molluscicides, rodenticides ou avicides. Du fait de son mode d'action, un produit phytopharmaceutique peut agir plus ou moins spécifiquement sur cette cible (insecticide généraliste ou seulement acaricide, par exemple). Parmi les agents phytopharmaceutiques, certains sont d'origine biologique comme les spores de *Bacillus thuringiensis* porteuses de diverses toxines ou les anti-protéases, leur rôle est analysé. Klöppel et Kördel (1997), Koch *et al.*, (2003) et Rautmann *et al.* (2001).

## Partie bibliographique

---

Le catalogue des produits phytopharmaceutiques compte environ 450 substances actives (principe actif des produits commerciaux) et quelques 5000 produits commerciaux correspondants (ACTA, 2008). Ultérieurement, provoquant, par voie de conséquence, des intoxications de colonies d'abeilles à retardement (Russell *et al.*, 1998). Cette présentation des agents chimiques est susceptible d'intervenir dans la mortalité des colonies d'abeilles,

### CHAPITRE II : Présentation du parasite *Varroa destructor*

#### 1- Historique

Le varroa (*Varroa destructor*) nommé autre fois (*Varroa jacobsoni*), ce nom revient en hommage à son découvreur (Anderson & Trueman, 2000 ; Achou et Rouibi, 2009).

Cet acarien qui a été récolté pour la première fois par l'entomologiste Edward Jacobson sur des abeilles de l'île de Java. Oudmans, acarologue a fait la première description en 1904. C'est un éctoparasite hématophage de l'abeille adulte *Apis mellifera* (colin *et al.*, 1997) ainsi que des larves et des nymphes. Cet acarien est originaire de l'Asie du Sud-est, où il vit aux dépens d'une espèce d'abeilles (*Apis cerana*) dont l'aire de répartition est principalement asiatique, était séparée de celle d'*Apis mellifera* par la zone désertique d'Iran et d'Afghanistan à l'ouest et les régions sibérienne froides. La relation hôte-parasite entre l'abeille *Apis cerana* et l'acarien *Varroa jacobsoni* est actuellement dans un état d'équilibre elle résiste à ses attaques (Donzé, 1995). Contrairement à l'abeille domestique européenne (*Apis mellifera*). Il provoque des pertes économiques importantes en apiculture et il est une des causes de la diminution du nombre d'abeilles (Anderson et Sukarsih, 1996). Aujourd'hui en Asie, Amérique du Nord et en Europe pas un rucher n'échappe à ce parasite. Seule l'île d'Ouessant reste épargnée (Wendling, 2012).

#### 2- Classification systématique du *Varroa destructor*

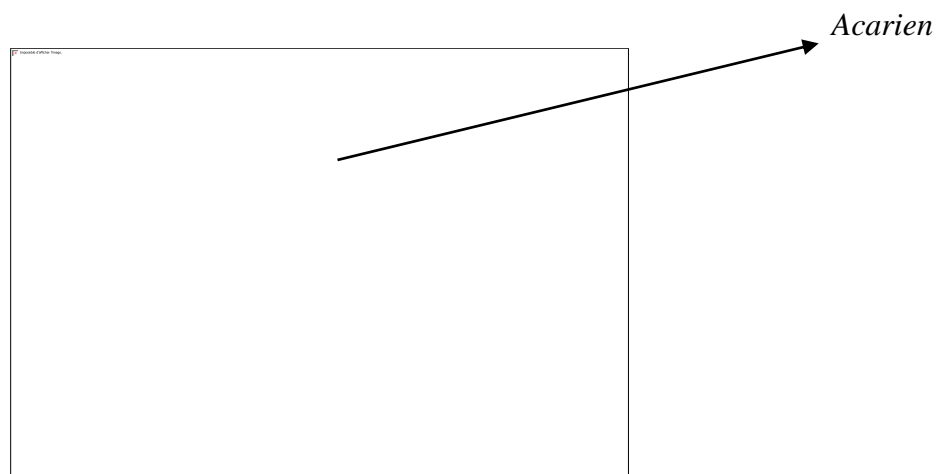
D'après la classification des auteurs (Anderson et Trueman, 2000) :

<b>Règne :</b>	Animalia
<b>Sous-Règne :</b>	Métazoire
<b>Embrenchement :</b>	Orthropoda
<b>Sous-Embrenchement :</b>	Chelicerata
<b>Classe :</b>	Arachnida
<b>Sous-classe :</b>	Acari

## Partie bibliographique

---

<b>Super-Ordre :</b>	Parasitiforme
<b>Ordre :</b>	Mesostigmata
<b>Sous-Ordre :</b>	Monogynaspida
<b>Cohorte :</b>	Gamasina
<b>Sous-cohorte :</b>	Dermanyssiae
<b>Super-Famille:</b>	Dermanyssoidea
<b>Famille:</b>	Varroidae
<b>Genre:</b>	<i>Varroa</i>
<b>Sous-Genre :</b>	<i>Varroa</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Varroa destructor</i>



**Fig.15 :** Présentation du hôte-parasite *Apis mellifera* et *Varroa destructor*  
(Anonyme, 2012)

### 3- Répartition de la maladie

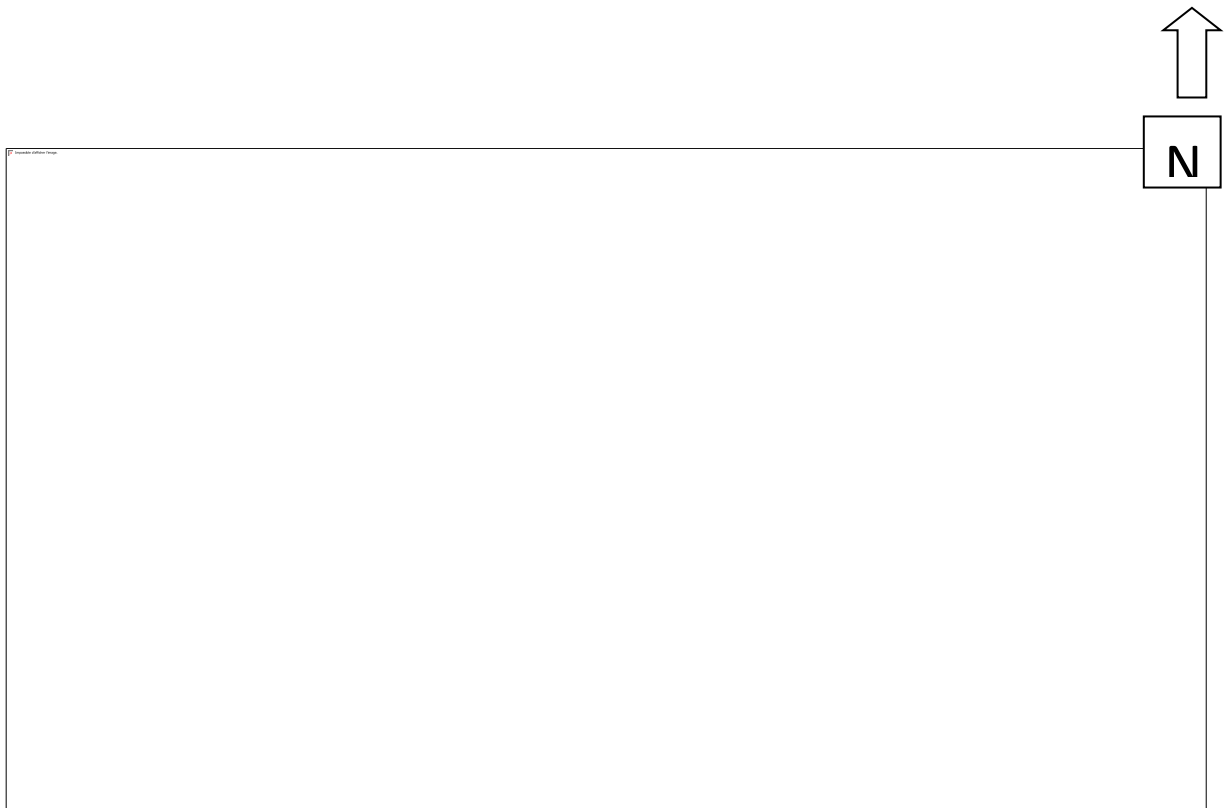
#### 3-1 Dans le monde

A cause des transhumances et du commerce mondial d'essaims la propagation du varroa fut rapide. Sa première observation sur *Apis mellifera* a été relevée en Sibérie en 1964. Dans les années 1970 il est apparu en Europe et en France depuis 1982 suite à des exportations massives des essaims contaminés (Anonyme, 2011)

## Partie bibliographique

---

Aujourd'hui, cet acarien qui représente un véritable problème s'est propagé quasiment sur l'ensemble de la planète. Seules l'Australie et certaines régions d'Afrique centrale sont encore épargnées par la varroise.



**Fig.16** : Répartition du varroa à travers le monde (Les zones en rouge)  
(Ellis et Nalen, 2010)

### 3-2 En Algérie

En Algérie, la varroise est signalée pour la première fois à l'est du pays, en juin 1981, dans un rucher à la coopérative apicole d'Oum Teboul, près d'El Kala. Actuellement, ce parasite s'est propagé rapidement dans tout le pays. Ce dernier représente une véritable menace d'infestation de tous les ruchers d'Algérie (Belaid et Doumandji, 2010).

### 4- Morphologie du Varroa

Le varroa ressemble à un petit crabe aplati (Clément, 2011). C'est la femelle que l'on observe le plus régulièrement. De couleur brun ou marron foncée et brillante de forme ellipsoïdale, elle mesure de 1 à 1,8 mm de long sur 1,5 à 2 mm de large, visible à l'œil nu sur son hôte (Anderson & Trueman, 2000).

Son poids est environ de 325 µg en phase de phorésie et il augmente en phase de reproduction environ 480µg voir deux jours après l'operculation de la cellule du

## Partie bibliographique

---

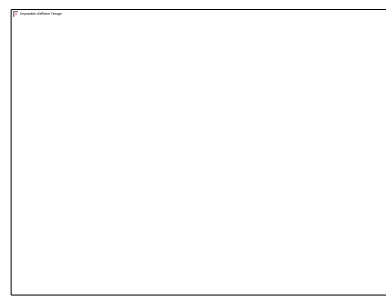
couvain (Garrido et al, 2000). Les femelles sont très agiles et l'extrémité de leurs pattes sont munies de ventouses pour s'agripper aux abeilles (Baker, 1984).

Les pattes sont courtes, le corps est recouvert de nombreuses soies. Près de la bouche un appareil piqueur-suceur lui permet de percer le revêtement de l'abeille et d'aspirer de l'hémolymphe, sa forme plate est bien adaptée pour se loger entre la nymphe et les parois de l'alvéole ainsi que sur le corps de l'abeille adulte. (Fig.17)

Les mâles ne sortent jamais des alvéoles. Ils sont jaunes-verdâtres de forme presque sphérique et mesurent environ 0,75 à 0,98 mm de long et 0,7 à 0,88 mm de large (Ellis et Nalen, 2010). Les membres sont longs et fins, le bouclier dorsal est finement couvert de soies très denses dans les parties postérieures (Colin et al., 1999). Le mâle n'est pas adapté au parasitisme, il meurt après l'émergence de l'abeille il ne se nourrit pas, son rôle principale est la reproduction (Faucon, 1992) (Fig.18)



**Fig .17** : Femelle adulte du *varroa destructor* (Ellis et Nalen, 2010)



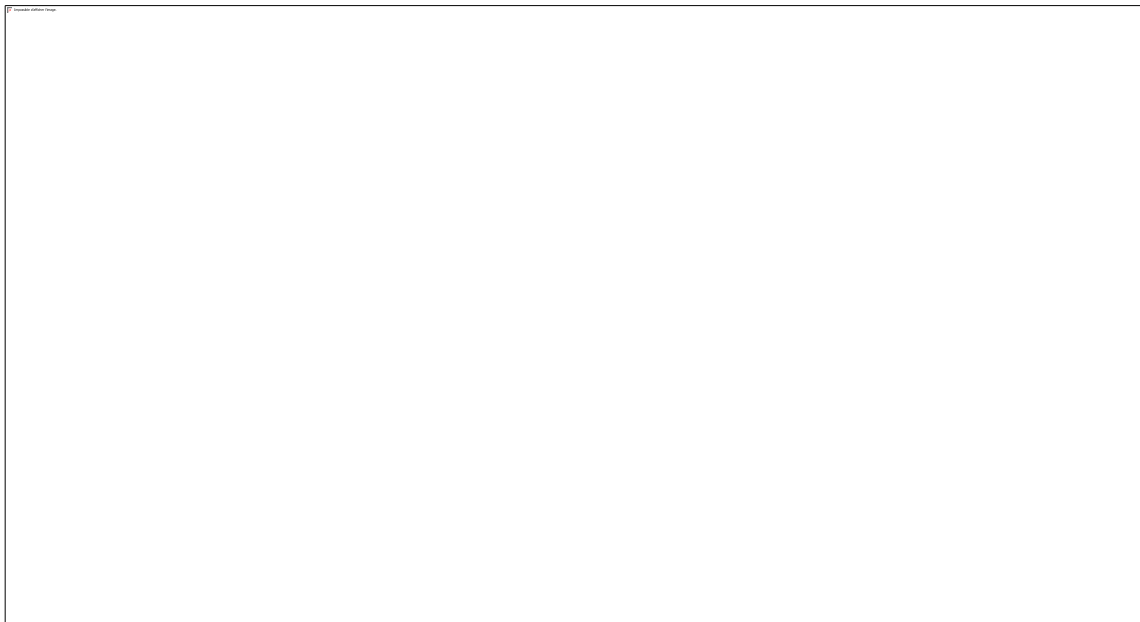
**Fig.18** : Le mâle adulte du *varroa destructor* (Anonyme, 2012)

### 5- Les conditions du développement du varroa

La virulence de la varroise semble pouvoir s'expliquer par les conditions de développement très favorables que le varroa rencontre dans les colonies d'*Apis mellifera*. Outre les facteurs trophiques qu'il prélève dans l'hémolymphe de l'abeille, le varroa y trouve sa température optimale de développement voir une température qui est limité entre 36.5°C à 38°C au-delà de cet intervalle, la fécondatrice alors ne peut se reproduire. Son thermo-référendum est en effet exactement compris dans les limites de température du couvain (Le Conte & Arnold, 1990a).

### **6- Cycle de vie de la population de *V. destructor* dans une colonie au courant de l'année**

La femelle varroa se nourrit par piqûre de l'hémolymphe des abeilles. La reine, les ouvrières et les mâles sont tous visés et cela à tous les stades de leur développement (larves, nymphes, abeilles adultes). La durée de vie du parasite est adaptée au cycle de vie de l'abeille. (Vandame et Collin, 1977).



**Fig.19** : Evolution de la population varroa durant l'année (Albouy, 2012)

### **7- Ontogénèse de *V.destructor***

#### **7-1 Synchronisation des formes immatures de *V.destructor* avec le cycle de développement de l'abeille *A. mellifera***

L'ontogénèse de *V.destructor* se déroule exclusivement dans une alvéole de couvain operculé ce qui laisse un temps limité à la descendance de *V.destructor* pour atteindre l'âge adulte.

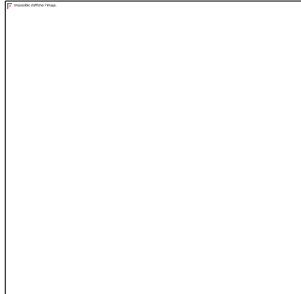
La femelle fondatrice débute l'oviposition environ 60 heures après être entrée dans une alvéole du couvain (Martin, 1998) (Fig.20)

- Le développement de l'œuf à l'adulte se fait dans la cellule operculée. Les différents stades sont:
- Œuf (24 heures)

## Partie bibliographique

---

- Protonymphes libre : (30 heures) et première mue (24heures)
- Deutonymphes : (48 à 60 h)
- Adulte après une mue imaginale : (24h)



1- Stade larvaire



2- Stade nymphale



3- Stade adulte

**Fig. 20** : Varroa sur l'abeille du stade larvaire au stade adulte (Martin, 1998).



**Fig.21** : Synchronisation entre les différents stades du développement de l'abeille et du Varroa (Martin, 2001)



### 8- Effets du varroa sur l'abeille

Plusieurs études sur les effets du parasitisme par *Varroa*, indiquent que :

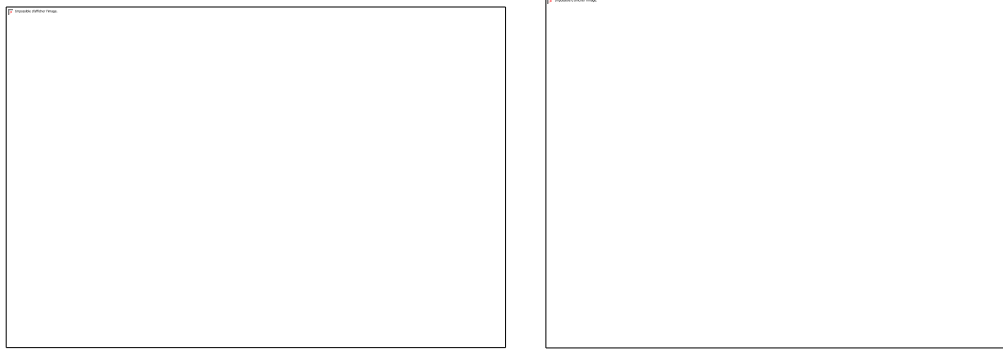
- les abeilles ouvrières infestées montrent une réduction du poids à l'émergence (Schneider & Drescher, 1987).
- Les ailes et l'abdomen sont diminués (Marcangeli et al 1992; Colin et al. 1997).
- Les acini des glandes hypo-pharyngiennes sont atrophiés et la longévité est plus courte (Schneider & Drescher, 1987).
- Un effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur le succès reproductif des faux bourdons (Buchler, 2003) et des anomalies dans le comportement de vol sont également notés (Kralj & Fuchs, 2003).

Du point de vue physiologique,

- les abeilles parasitées montrent des réductions du volume de l'hémolymphe, le *Varroa* prive l'abeille de plusieurs cellules sanguines et de protéines.
- la gelée produite par les nourrices est alors de moins bonne qualité ce qui nuit au bon développement du couvain (Weinberg & Madel, 1985).
- Le nombre d'hémocytes, l'une des mesures du composant du système immunitaire les plus couramment employées, est réduit (Weinands & Madel, 1988).

Les colonies d'abeilles parasitées sont affaiblies par l'acarien et peuvent être contaminées par des infections secondaires, virus et bactéries, qui favorisent le développement d'autres maladies telles que le couvain sacciforme, les loques et la paralysie aiguës etc. Ce qui accélèrent leur extinction et les font disparaître en deux ou trois ans, parfois moins (Le Conte, 1990).

Afin de mettre au point des méthodes de lutte spécifique, une étude poussée sur l'interaction hôte (abeille), parasite (*Varroa*) s'avère primordiale (Belaid et Doumandji 2010).



**Fig. 22:** Abeilles nouvellement émergées montrant des symptômes de malformations des ailes causées par un virus transmis par le *Varroa destructor* (Lodesani., Crailsheim., Moritz, 2002)

### 9- Symptômes

Le diagnostic de la maladie est difficile au début. Il est toutefois possible d'observer à l'œil nu les parasites dans le couvain ou sur les adultes. C'est une maladie grave entraînant souvent la perte de la colonie (Imdorf, 1991).

Cette maladie provoque énormément de dégâts telle que la :

- Réduction de la durée de vie de la reine conduit parfois un arrêt de ponte.
- Réduction de la taille et des malformations des imagos.
- Réduction du potentiel sexuel des mâles.
- Réduction de la capacité du vol.
- Modification éthologique (perte du sens et de direction).
- Vectorisation d'agent infectieux.
- Activation virale.
- Problème de stockage de pollen (apparition de la mosaïque)
- Perte de la population
- Sensibilité à la fausse teigne

### 10- Lutte contre le varroa

Au début de la propagation, ils ont cru pouvoir l'éradiquer en détruisant systématiquement les colonies touchées. Mais la contagion est inexorable à cause de facteurs importants de disséminations naturels (pillage, dérive, essaimage) ou anthropiques (transhumance, commerce des colonies).

#### 10-1 Traitements chimiques

En 1982, le seul traitement disponible était le « Forbex VA ». Sous forme de bandes papier. Ce traitement se montra vite inopérant. Des générateurs d'aérosol

## Partie bibliographique

---

apparaissent « Edar, Phagogène ». Ces appareils volumineux nécessitent pour fonctionner de l'électricité ou du gaz. Ils permettent d'introduire dans les colonies différentes substances actives. (Collin, 2011)

La plus utilisée est « l'Amitrase ». La même substance peut aussi être imbibée dans des langes enduits de vaseline. Mais il ne s'attaque pas aux varroas logés dans les alvéoles operculées et nécessite donc de fréquentes applications. Il est donc surtout efficace en période hivernale où le couvain est réduit. (Alphonse, 2011)

Depuis deux nouveaux produits sont disponibles. L'« Apivar » à base de « Amitrase » et le « Périzin », à base de « Coumaphos » (organophosphoré). Cette dernière molécule présente l'inconvénient de se retrouver dans les cires et porterait préjudice au développement des larves d'abeilles (Faucon et al., 2007a).

### 10-2 Traitement alternatif

L'alternance des molécules accroît l'action du traitement. À l'heure actuelle, il est nécessaire de faire un traitement en deux phases. Premièrement un traitement réalisé juste après la récolte du miel puis un traitement radical en hiver profitant du faible nombre du couvain.

### 10-3 Traitement mécanique

Certains apiculteurs font construire des cadres à couvain de mâles où les varroas se développent en grand nombre et avant l'émergence des faux-bourçons détruisent ces cadres. L'utilisation de fonds grillagés dans les ruches empêcherait les varroas qui tomberaient accidentellement de remonter dans la ruche. La même remarque est évoquée pour expliquer que les colonies sauvages installées dans des cheminées ou dans les arbres seraient moins touchées par le varroa.

## 11- D'autres axes de recherche dans la lutte contre varroa

### 11-1 Sélection d'abeilles hygiéniques

On suppose que *Apis mellifera* pourrait développer avec le temps par sélection naturelle des comportements de lutte contre le varroa, comme l'a fait *Apis cerana*.

### 11-2 Les Bio-pesticides

On ne connaît pas de prédateurs à cet acarien (Riondet, 2010). La recherche s'oriente aussi vers la découverte de virus ayant pour cible le varroa. Ils ne s'attaqueraient qu'au varroa et épargneraient l'abeille, mais la culture de ces virus reste une problématique (Tardieu, 2009).

### 11-3 Méthode d'estimation du niveau d'infestation

L'estimation du niveau d'infestation est déterminante pour la mise en place des stratégies de lutte, pour l'évaluation de l'efficacité des traitements, ainsi que pour la mise en place de programmes de sélection.

#### 11-3-1 Méthode dite des « langes »

La méthode dite « des langes » consiste à comptabiliser le nombre de *V. destructor* tombés naturellement sur un lange graissé placée sur le sol d'une ruche à fond grillagé. Une corrélation existe entre le nombre journalier de chutes et la population totale d'acaréens au sein d'une colonie (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007). Pour augmenter la fiabilité de la méthode, la moyenne des chutes journalières doit être établie sur plusieurs jours. Relation entre la chute naturelle journalière et la population totale de *Varroa destructor* (adapté, d'après Charrière *et al.*, 1998).

Après traitement total, bien qu'aucune molécule acaricide ne montre une efficacité de 100 %, on peut estimer que si le traitement acaricide est efficace, la population de *V. destructor* récoltée sur le fond des ruches à l'issue du traitement s'approche de la population totale d'acaréens présente au moment de la mise en place de ce traitement.

Il existe une forte corrélation entre la chute de *V. destructor* et l'émergence du couvain d'abeilles. L'avantage de la méthode d'estimation du niveau d'infestation par comptage des *V. destructor* trouvés au fond de la ruche est qu'elle est peu fastidieuse comparée aux autres méthodes. Elle est également non destructive et peut être mise en place par les apiculteurs eux-mêmes. Cette estimation reste toutefois très imprécise. En effet de nombreux paramètres, notamment environnementaux peuvent influencer sur les résultats (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007). En outre, cette méthode semble fiable uniquement pour des colonies qui ne sont pas en phase d'effondrement (Branco *et al.*, 2006 ; Lobb et Martin, 1997)

## CHAPITRE III. La présentation de l'espèce végétale *Citrus limonum*

### 1- Historique

Les « Citrus », plus communément appelés agrumes sont originaires d'Asie. Ils ont été introduits dans le bassin méditerranéen par « Alexandre le Grand » (Paris et Moysé, 1981). Plus tard, les agrumes ont été introduits sur la côte-Est de l'Afrique par les échanges commerciaux qu'assuraient les califes turques. Leur entrée en Amérique, s'est par les européens.

## Partie bibliographique

La production mondiale actuelle de Citrus avoisine le chiffre de 105 millions de tonnes (FAO, 2004). Elle occupe aujourd'hui la seconde place dans les échanges mondiaux des produits végétaux.

En Algérie l'agrumiculture a progressé en trois étapes successives : la première commence en 1850, date d'introduction du mandarinier. Au premier recensement algérien, en 1858, on dénombre 170 hectares d'orangeries avec 22.330 arbres dont la plus part se trouvent dans la région de Blida. A l'indépendance de l'Algérie, on recense donc 42.500 hectares pour une production nationale globale de 450.000 tonnes. Aujourd'hui elle n'est plus que de 600.000 tonnes, ce qui nous place au 10ème rang des producteurs du bassin méditerranéen (Chemat ; Ferhat ; Meklati, 2010).

### 2- Situation actuelle du verger agrumicole

Le verger agrumicole algérien s'étend, à la fin de l'année 2004, sur une superficie de 59.368, soit 0,7% de la surface agricole utilisée (ITAFV, 2007) ; sa répartition par wilaya se présente, comme suit, dans la figure, ci-dessous

Le verger agrumicole national occupe à la fin 2010 une superficie de 62902 hectares, soit 7.8% de la surface totale agricole. Le verger agrumicole est localisé dans trois zones :

- A l'est : Wilayas d'El-taref et de Skikda
- Au centre : Wilayas de Blida, de Chlef et de Tipaza
- A l'ouest : Wilayas de Mascara, de Mostaganem et de Relizane

**Tableau. N° 3** : Superficies occupée dans les principales Wilayates :

WILAYA	AGRUMES
Chlef	5808
Bejaia	1999
Blida	16304
Tlemcen	2478
Skikda	2257
Mostaghanem	4166
Mascara	4200
Boumerdes	2197
El-taref	2165
Tipaza	3579
Ain- defla	3579
Relizane	2400
Alger	4535
Setif	4936

Ministère de l'agriculture, 2011

A la lumière des données par wilaya, on révèle que « Blida » domine largement, avec 27% de la superficie totale et réalise une part importante de la production nationale avec un rendement variant de 150 à 170 qx/ha soit (36,40%) de la production totale. Cette production est orientée, essentiellement, vers la Washington Navel et la Thomson Navel (FAO, 2006).

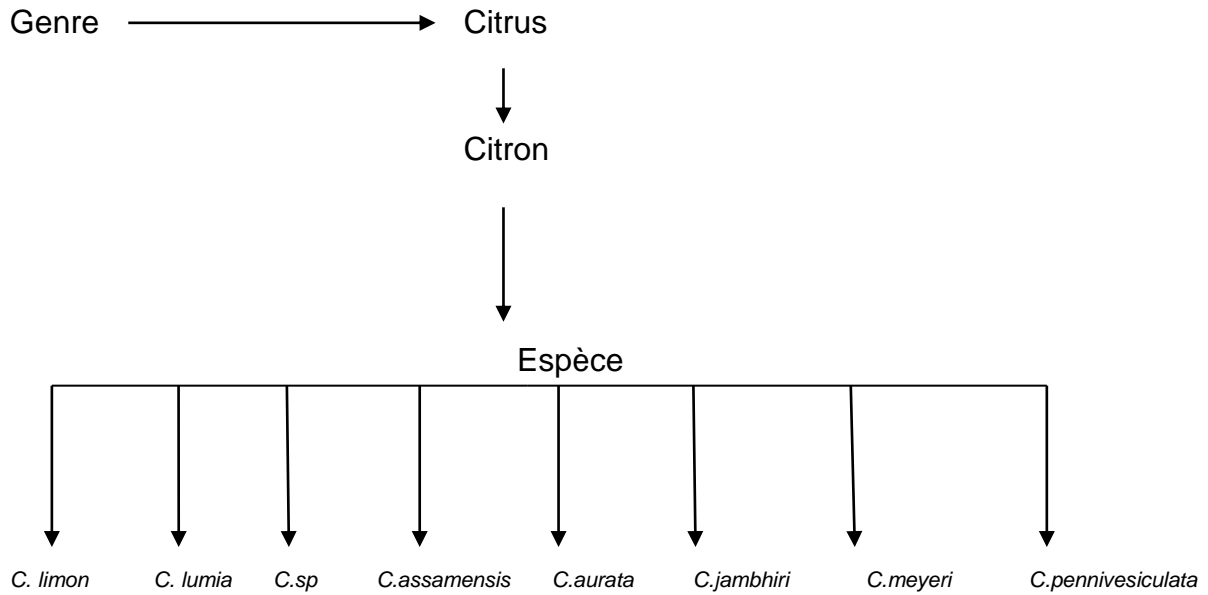


**Fig. 23** : Répartition des vergers agrumicoles Algériens (FAO, 2006)

### **3- Les différentes variétés de *citrus***

Il existe plusieurs variétés d'agrumes largement consommées. Depuis 300 ans de nombreuses classifications botaniques furent créées dans le but de structurer le genre *Citrus*. Il existe à l'heure actuelle 1300 variétés attribuées à ce genre, et chaque variété porte diverses appellations. La classification des agrumes est un problème que les spécialistes s'accordent à qualifier de complexe. Des divergences en la matière se manifestent entre les opinions des taxonomistes.

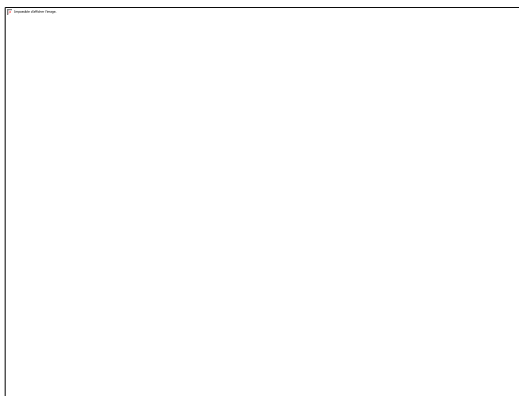
Parmi les nombreuses variétés de citron à pulpe acide, on trouve l'« Eurêka » la plus renommée originaire de Los Angeles .Le groupe de citron est constitué de plusieurs espèces. (Fig.24)



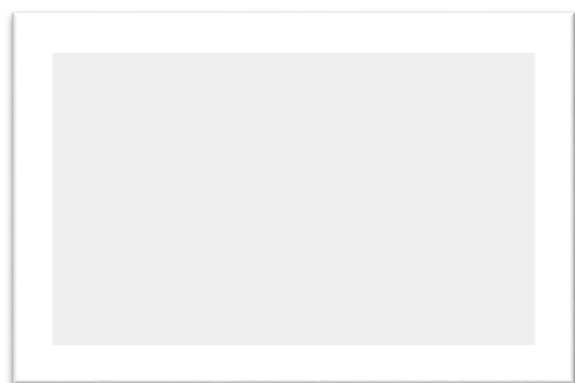
**Fig.24** : Classification des citrons (INRA, 1997)

### - Plante de *Citrus limonum*

Le citronnier est un arbuste originaire du sud-est asiatique, cultivé sur le littoral de la Méditerranée et dans toutes les régions du globe à climat semi-tropical (Dubois, 2006 ; Debuigine et Couplan, 2008). Les fruits sont de forme ovale, avec un mamelon plus au moins apparent à leurs extrémités. La peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre, est généralement riche en acide citrique, ce qu'il lui donne sa saveur acide (Blancke, 2001).



**Fig.25** : L'arbre du citronnier (Anonyme, 2011)



**Fig.26**: Présentation systématique de la plante du citronnier (feuilles, fleurs et fruits)

### 4- La classification systématique

<b>Règne :</b>	<i>Plantae</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Sapindales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Rutaceae</i>
<b>Sous-Famille :</b>	<i>Aurantioideae</i>
<b>Tribu :</b>	<i>Citreae</i>
<b>Sous-tribu :</b>	<i>Citrinae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Citrus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Citrus limonum</i>

(Padrini et Lucheroni, 1996)

### 5- Généralités sur les huiles essentielles

La norme AFNOR NF T 75-006 (1998) *In* Bruneton, 1993 a donné comme définition d'huile essentielle : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

#### 5-1- Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai *et al.*, 2003 *In* Mohammedi, 2006).

Selon Roeder (1999), l'octopamine a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. ENAN (2000) a fait le lien entre l'application de l'eugénol, de l' $\alpha$ -terpinéol et de l'alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Il conclut que l'effet peut varier d'un terpène à l'autre et que les huiles essentielles peuvent agir en tant qu'agonistes ou antagonistes du neurotransmetteur.



### 5-2- Composition chimique

Les huiles volatiles sont des mélanges très complexes, les constituants sont principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes de formule générale  $(C_5H_8)_n$ , les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures incluent des alcools, des aldéhydes, des esters, des éthers, des cétones et des phénols. On estime qu'il y a plus de 1000 « mono-terpènes » et 3000 de structures sesquiterpènes. D'autres composés incluent des « phenylpropanes » et des composés spécifiques contenant le soufre ou l'azote (Svoboda et Hampson, 1999 *In* Mohammedi, 2006). La norme ISO : NF T 75-335 (1995) *In* Robert et Lobstein (2005) a donné la composition de l'huile essentielle extraite par expression de l'écorce du *Citrus limon* avec un rendement de 1,2 à 1,5%. Les principaux constituants sont « le limonène » (65 à 70%), le « citral » (1 à 5%), « le  $\beta$ -pinène » (4 à 9%), « le  $\gamma$ -terpinène » (9 à 12%), « le linalol » (1,5%), « le cinéol d'acétate de géranyle », « le nonanal », « le citronellal », « l' $\alpha$ -terpinéol », « le camphène » et « l' $\alpha$ -bisabolène ».

### 5-3- Localisation et lieu de synthèse

Les huiles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielle des Lauracées (*Camphora officinarium*) ou des Zingiberaceae (*Zingiber officinale*), poils sécréteurs des Lauracées : *Citrus limon* (Porter, 2001). *Mentha spicata*, des poches sécrétrices des Myrtacées (*Eucalyptus leucoxylon*) ou des Rutacées (*Citrus limon*), canaux sécréteurs des Apiacées (*Daucus carota*) ou des Astéracées (*Anthemis tomentosa*) (Garnero, 1991). Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce (*Schinus molle*), voire dans un même organe (fruits de *Citrus limon*) (Bruneton, 1993).

Les diverses espèces du genre *Citrus* élaborent et stockent, dans des poches schizolysigènes localisées dans la partie externe du mésocarpe du fruit (flavedo), des huiles essentielles. C'est cette localisation particulière qui permet de les récupérer directement par « expression » (Bruneton, 1999).

Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'huile essentielle. Les plantes qui manquent de telles structures spécialisées synthétisent et amassent seulement des traces de monoterpènes ainsi que le procès sécréteur d'huile et le mécanisme ont une incidence directe avec la production de l'huile et le potentiel du système producteur (Sharma et Maguer, 2003).

### **6- Procédés d'Extraction**

#### **6-1- Entraînement à la vapeur d'eau**

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal (intact ou broyé) dans un alambic rempli d'eau, ensuite porter le tout à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par la différence de densité (Bruneton, 1999).

Dans la distillation à vapeur saturée, le végétal n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée à travers la masse végétale disposée sur une plaque perforée (Belaiche, 1979). En se dirigeant vers la plante, la vapeur fait éclater les cellules contenant l'essence et entraîne avec elle les molécules odorantes (Padrini et Lucheroni, 1996).

#### **6-2- Expression des épicarpes de Citrus**

L'expression des épicarpes se fait par dilacération des agrumes pour libérer le contenu des poches sécrétrices. Ce dernier est récupéré par un procédé physique après agitation. Le procédé classique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface de fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile est séparée de la phase aqueuse par différence de densité (Bruneton, 1999 ; Werner, 2002).

#### **6-3- Facteur de variabilité**

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, sa température et sa durée (Smallfield, 2001)

### **7- Facteurs extrinsèques**

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N.P.K., régime hydrique), la température, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe (Bruneton, 1999 ; Couderc, 2001), sans ainsi oublier les facteurs géographiques et édaphiques (Garnero, 1991).

### **8- Toxicité des huiles essentielles**

L'utilisation des huiles essentielles du citron extraites soit par hydro-distillation soit par expression à froid ne présente aucun risque de toxicité, ni aiguë ni chronique (Robert et Lobstein, 2005).

Les huiles essentielles contenant des phénols, tels que le thym, la cannelle et le clou de girofle, devraient être employées avec prudence. Les cétones contenues dans l'armoise, la sauge et les huiles d'hysope peuvent ainsi causer la toxicité (Bruneton, 1993 ; Couderc, 2001).

### **9- Utilisation des huiles essentielles**

Dans la recherche de la méthode alternative la lutte biologique offre de nombreuses possibilités qui se développent actuellement dans le règne végétal pour isoler et identifier des composés de plantes qui ont une activité antibactérienne, antioxydante, antifongique et insecticide (Djenane et *al.*, 2002 ; Bousbia, 2004 ; Bouzuita et *al.*, 2008 ; Djenane et *al.*, 2011b).

Selon Leconte et Collin (2006), les huiles pulvérisées sur les abeilles représentent une piste qui est développée depuis plusieurs années sur la base d'observations faites en testant l'effet de kairomones ou d'huiles essentielles émulsifiées dans l'eau sur des abeilles parasitées. Il est en effet souvent rapporté l'intérêt des substances huileuses dans la répulsion ou la perturbation du comportement des insectes parasites.

## Partie bibliographique

---

### CHAPITRE II : Présentation du parasite *Varroa destructor*

#### 1- Historique

Le varroa (*Varroa destructor*) nommé autre fois (*Varroa jacobsoni*) , ce nom revient en hommage à son découvreur (Anderson & Trueman, 2000 ; Achou et Rouibi, 2009).

Cet acarien qui a été récolté pour la première fois par l'entomologiste Edward Jacobson sur des abeilles de l'île de Java. Oudmans, acarologue a fait la première description en 1904. C'est un éctoparasite hématophage de l'abeille adulte *Apis mellifera* (colin et al, 1997) ainsi que des larves et des nymphes. Cet acarien est originaire de l'Asie du Sud-est, où il vit aux dépend d'une espèce d'abeilles (*Apis cerana*) dont l'aire de répartition est principalement asiatique, était séparée de celle d'*Apis mellifera* par la zone désertique d'Iran et d'Afghanistan à l'ouest et les régions sibérienne froides. La relation hôte-parasite entre l'abeille *Apis cerana* et l'acarien *Varroa jacobsoni* est actuellement dans un état d'équilibre elle résiste à ses attaques (Donzé, 1995). Contrairement à l'abeille domestique européenne (*Apis mellifera*). Il provoque des pertes économiques importantes en apiculture et il est une des causes de la diminution du nombre d'abeilles (Anderson et Sukarsih, 1996). Aujourd'hui en Asie, Amérique du Nord et en Europe pas un rucher n'échappe à ce parasite. Seule l'île d'Ouessant reste épargnée (Wendling, 2012).

#### 2- Classification systématique du *Varroa destructor*

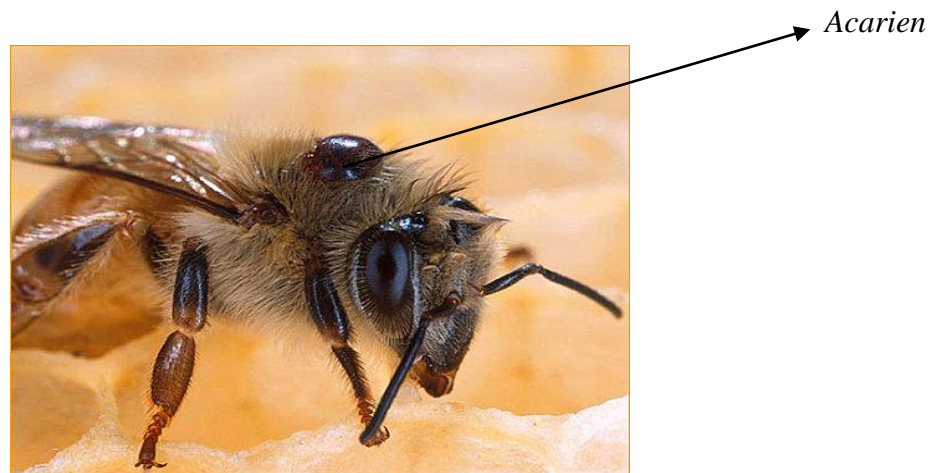
D'après la classification des auteurs (Anderson et Trueman, 2000) :

<b>Règne :</b>	Animalia
<b>Sous-Règne :</b>	Métazoire
<b>Embrenchement :</b>	Orthropoda
<b>Sous-Embrenchement :</b>	Chelicerata
<b>Classe :</b>	Arachnida
<b>Sous-classe :</b>	Acari
<b>Super-Ordre :</b>	Parasitiforme
<b>Ordre :</b>	Mesostigmata

## Partie bibliographique

---

<b>Sous-Ordre :</b>	Monogynaspida
<b>Cohorte :</b>	Gamasina
<b>Sous-cohorte :</b>	Dermanyssiae
<b>Super-Famille:</b>	Dermanyssoidea
<b>Famille:</b>	Varroidae
<b>Genre:</b>	<i>Varroa</i>
<b>Sous-Genre :</b>	<i>Varroa</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Varroa destructor</i>



**Fig.15 :** Présentation du hôte-parasite *Apis mellifera* et *Varroa destructor*  
(Anonyme, 2012)

### 3- Répartition de la maladie

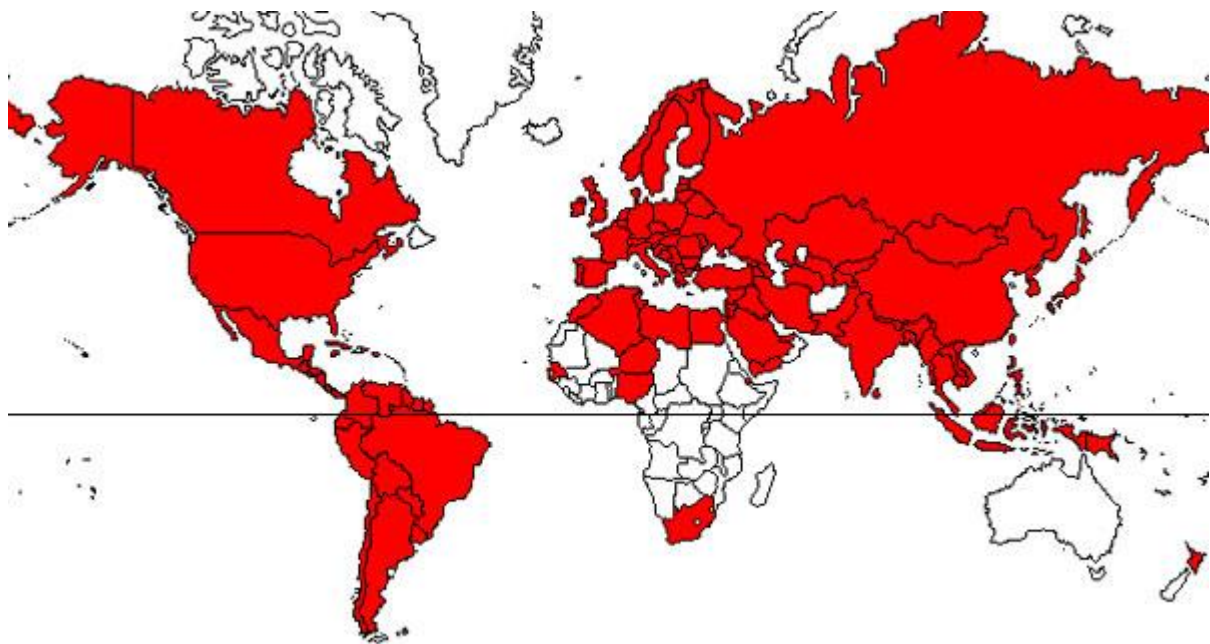
#### 3-1 Dans le monde

A cause des transhumances et du commerce mondial d'essaims la propagation du varroa fut rapide. Sa première observation sur *Apis mellifera* a été relevée en Sibérie en 1964. Dans les années 1970 il est apparu en Europe et en France depuis 1982 suite à des exportations massives des essaims contaminés (Anonyme, 2011)

## Partie bibliographique

---

Aujourd'hui, cet acarien qui représente un véritable problème s'est propagé quasiment sur l'ensemble de la planète. Seules l'Australie et certaines régions d'Afrique centrale sont encore épargnées par la varroise.



**Fig.16** : Répartition du varroa à travers le monde (Les zones en rouge)  
(Ellis et Nalen, 2010)

### 3-2 En Algérie

En Algérie, la varroise est signalée pour la première fois à l'est du pays, en juin 1981, dans un rucher à la coopérative apicole d'Oum Teboul, près d'El Kala. Actuellement, ce parasite s'est propagé rapidement dans tout le pays. Ce dernier représente une véritable menace d'infestation de tous les ruchers d'Algérie (Belaid et Doumandji, 2010).

### 4- Morphologie du Varroa

Le varroa ressemble à un petit crabe aplati (Clément, 2011). C'est la femelle que l'on observe le plus régulièrement. De couleur brun ou marron foncée et brillantée de forme ellipsoïdale, elle mesure de 1 à 1,8 mm de long sur 1,5 à 2 mm de large, visible à l'œil nu sur son hôte (Anderson & Trueman, 2000).

Son poids est environ de 325 µg en phase de phorésie et il augmente en phase de reproduction environ 480µg voir deux jours après l'operculation de la cellule du couvain (Garrido et al, 2000). Les femelles sont très agiles et l'extrémité de leurs pattes sont munies de ventouses pour s'agripper aux abeilles (Baker, 1984).

Les pattes sont courtes, le corps est recouvert de nombreuses soies. Prés de la bouche un appareille piqueur-suceur lui permet de percer le revêtement de l'abeille et d'aspirer de l'hémolymphe, sa forme plate est bien adaptée pour se loger entre la nymphe et les parois de l'alvéole ainsi que sur le corps de l'abeille adulte. (Fig.17)

Les mâles ne sortent jamais des alvéoles. Ils sont jaunes-verdâtres de forme presque sphérique et mesurent environ 0,75 à 0,98 mm de long et 0,7 à 0,88 mm de large (Ellis et Nalen, 2010). Les membres sont longs et fins, le bouclier dorsal est finement couvert de soies très denses dans les parties postérieures (Colin et *al.*, 1999). Le mâle n'est pas adapté au parasitisme, il meurt après l'émergence de l'abeille il ne se nourrit pas, son rôle principale est la reproduction (Faucon, 1992) (Fig.18)



**Fig .17** : Femelle adulte du *varroa destructor* (Ellis et Nalen, 2010)



**Fig.18** : Le mâle adulte du *varroa destructor* (Anonyme, 2012)



### 5- Les conditions du développement du varroa

La virulence de la varroise semble pouvoir s'expliquer par les conditions de développement très favorables que le varroa rencontre dans les colonies d'*Apis mellifera*. Outre les facteurs trophiques qu'il prélève dans l'hémolymphe de l'abeille, le varroa y trouve sa température optimale de développement voir une température qui est limité entre 36.5°C à 38°C au-delà de cet intervalle, la fécondatrice alors ne peut se reproduire. Son thermo-référendum est en effet exactement compris dans les limites de température du couvain (Le Conte & Arnold, 1990a)

### 6- Cycle de vie de la population de *V. destructor* dans une colonie au courant de l'année

La femelle varroa se nourrit par piqûre de l'hémolymphe des abeilles. La reine, les ouvrières et les mâles sont tous visés et cela à tous les stades de leur développement (larves, nymphes, abeilles adultes). La durée de vie du parasite est adaptée au cycle de vie de l'abeille. (Vandame et Collin, 1977).

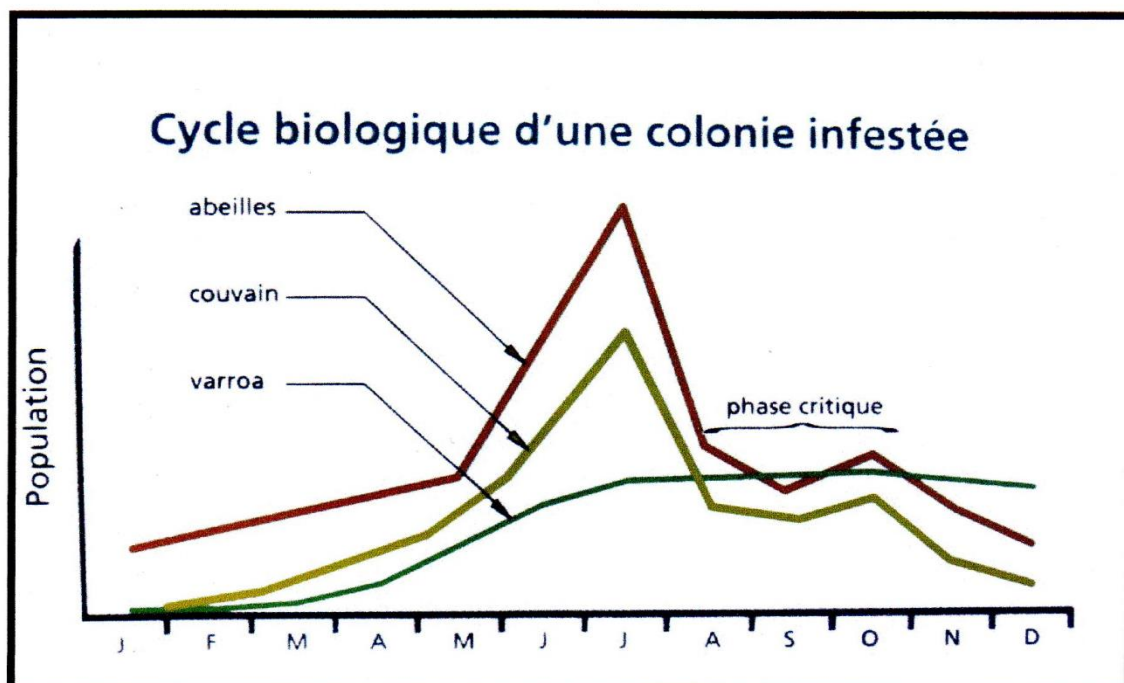


Fig.19 : Evolution de la population varroa durant l'année (Albouy, 2012)

### 7- Ontogénèse de *V.destructor*

#### 7-1 Synchronisation des formes immatures de *V.destructor* avec le cycle de développement de l'abeille *A. mellifera*

L'ontogénèse de *V.destructor* se déroule exclusivement dans une alvéole de couvain operculé ce qui laisse un temps limité à la descendance de *V.destructor* pour atteindre l'âge adulte.

La femelle fondatrice débute l'oviposition environ 60 heures après être entrée dans une alvéole du couvain (Martin, 1998) (Fig.20)

- Le développement de l'œuf à l'adulte se fait dans la cellule operculée. Les différents stades sont:
- Œuf (24 heures)
- Protonymphes libre : (30 heures) et première mue (24heures)
- Deutonymphes : (48 à 60 h)
- Adulte après une mue imaginale : (24h)



1- Stade larvaire

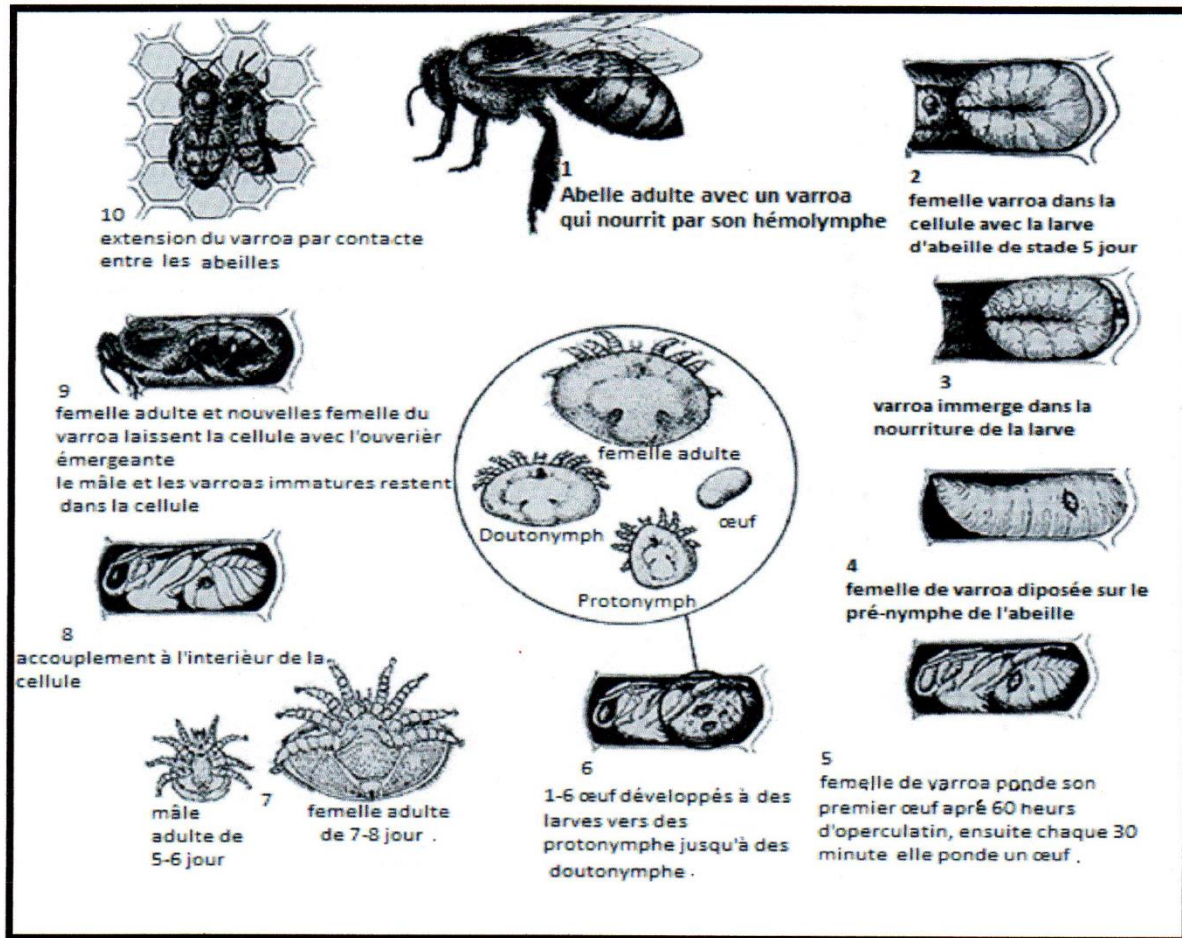


2- Stade nymphale



3- Stade adulte

**Fig. 20** : Varroa sur l'abeille du stade larvaire au stade adulte (Martin, 1998).



**Fig.21** : Synchronisation entre les différents stades du développement de l'abeille et du Varroa (Martin, 2001)

### 8- Effets du varroa sur l'abeille

Plusieurs études sur les effets du parasitisme par *Varroa*, indiquent que :

- les abeilles ouvrières infestées montrent une réduction du poids à l'émergence (Schneider & Drescher, 1987).
- Les ailes et l'abdomen sont diminués (Marcangeli et al 1992; Colin et al. 1997).
- Les acini des glandes hypo-pharyngiennes sont atrophiés et la longévité est plus courte (Schneider & Drescher, 1987).
- Un effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur le succès reproductif des faux bourdons (Buchler, 2003) et des anomalies dans le comportement de vol sont également notés (Kralj & Fuchs, 2003).

## Partie bibliographique

---

Du point de vue physiologique,

- les abeilles parasitées montrent des réductions du volume de l'hémolymphe, le *Varroa* prive l'abeille de plusieurs cellules sanguines et de protéines.
- la gelée produite par les nourrices est alors de moins bonne qualité ce qui nuit au bon développement du couvain (Weinberg & Madel, 1985).
- Le nombre d'hémocytes, l'une des mesures du composant du système immunitaire les plus couramment employées, est réduit (Weinands & Madel, 1988).

Les colonies d'abeilles parasitées sont affaiblies par l'acarien et peuvent être contaminées par des infections secondaires, virus et bactéries, qui favorisent le développement d'autres maladies telles que le couvain sacciforme, les loques et la paralysie aiguës etc. Ce qui accélèrent leur extinction et les font disparaître en deux ou trois ans, parfois moins (Le Conte, 1990).

Afin de mettre au point des méthodes de lutte spécifique, une étude poussée sur l'interaction hôte (abeille), parasite (*Varroa*) s'avère primordiale (Belaid et Doumandji 2010).



**Fig. 22:** Abeilles nouvellement émergées montrant des symptômes de malformations des ailes causées par un virus transmis par le *Varroa destructor* (Lodesani., Crailsheim., Moritz, 2002)

### 9- Symptômes

Le diagnostic de la maladie est difficile au début .Il est toutefois possible d'observer à l'œil nu les parasites dans le couvain ou sur les adultes. C'est une maladie grave entraînant souvent la perte de la colonie (Imdorf, 1991).

Cette maladie provoque énormément de dégâts telle que la :

- Réduction de la durée de vie de la reine conduit parfois un arrêt de ponte.
- Réduction de la taille et des malformations des imagos.
- Réduction du potentiel sexuel des mâles.
- Réduction de la capacité du vol.
- Modification éthologique (perte du sens et de direction).
- Vectorisation d'agent infectieux.
- Activation virale.
- Problème de stockage de pollen (apparition de la mosaïque)
- Perte de la population
- Sensibilité à la fausse teigne

### 10- Lutte contre le varroa

Au début de la propagation, ils ont cru pouvoir l'éradiquer en détruisant systématiquement les colonies touchées. Mais la contagion est inexorable à cause de facteurs importants de disséminations naturels (pillage, dérive, essaimage) ou anthropiques (transhumance, commerce des colonies).

#### 10-1 Traitements chimiques

En 1982, le seul traitement disponible était le « Forbex VA ». Sous forme de bandes papier. Ce traitement se montra vite inopérant. Des générateurs d'aérosol apparurent « Edar, Phagogène ». Ces appareils volumineux nécessitent pour fonctionner de l'électricité ou du gaz. Ils permettent d'introduire dans les colonies différentes substances actives. (Collin, 2011)

La plus utilisée est « l'Amitrase » La même substance peut aussi être imbibée dans des langes enduits de vaseline. Mais il ne s'attaque pas aux varroas logés dans

## Partie bibliographique

---

les alvéoles operculées et nécessite donc de fréquentes applications. Il est donc surtout efficace en période hivernale où le couvain est réduit. (Alphonse, 2011)

Depuis deux nouveaux produits sont disponibles. L'« Apivar » à base d'« amitraze » et le « Périzin », à base de « Coumaphos » (organophosphoré), Cette dernière molécule présente l'inconvénient de se retrouver dans les cires et porterait préjudice au développement des larves d'abeilles (Faucon et *al.*, 2007a).

### 10-2 Traitement alternatif

L'alternance des molécules accroît l'action du traitement. À l'heure actuelle, il est nécessaire de faire un traitement en deux phases. Premièrement un traitement réalisé juste après la récolte du miel puis un traitement radical en hiver profitant du faible nombre du couvain.

### 10-3 Traitement mécanique

Certains apiculteurs font construire des cadres à couvain de mâles où les varroas se développent en grand nombre et avant l'émergence des faux-bourçons détruisent ces cadres. L'utilisation de fonds grillagés dans les ruches empêcherait les varroas qui tomberaient accidentellement de remonter dans la ruche. La même remarque est évoquée pour expliquer que les colonies sauvages installées dans des cheminées ou dans les arbres seraient moins touchées par le varroa.

## 11- D'autres axes de recherche dans la lutte contre varroa

### 11-1 Sélection d'abeilles hygiéniques

On suppose que *Apis mellifera* pourrait développer avec le temps par sélection naturelle des comportements de lutte contre le varroa, comme l'a fait *Apis cerana*.

---

### 11-2 Les Bio-pesticides

On ne connaît pas de prédateurs à cet acarien (Riondet, 2010). La recherche s'oriente aussi vers la découverte de virus ayant pour cible le varroa. Ils ne s'attaqueraient qu'au varroa et épargneraient l'abeille, mais la culture de ces virus reste une problématique (Tardieu, 2009).

### 11-3 Méthode d'estimation du niveau d'infestation

L'estimation du niveau d'infestation est déterminante pour la mise en place des stratégies de lutte, pour l'évaluation de l'efficacité des traitements, ainsi que pour la mise en place de programmes de sélection.

#### 11-3-1 Méthode dite des « langes »

La méthode dite « des langes » consiste à comptabiliser le nombre de *V. destructor* tombés naturellement sur un lange graissé placée sur le sol d'une ruche à fond grillagé. Une corrélation existe entre le nombre journalier de chutes et la population totale d'acariens au sein d'une colonie (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007). Pour augmenter la fiabilité de la méthode, la moyenne des chutes journalière doit être établie sur plusieurs jours. Relation entre la chute naturelle journalière et la population totale de *Varroa destructor* (adapté, d'après Charrière *et al.*, 1998).

Après traitement total, bien qu'aucune molécule acaricide ne montre une efficacité de 100 %, on peut estimer que si le traitement acaricide est efficace, la population de *V. destructor* récoltée sur le fond des ruches à l'issue du traitement s'approche de la population totale d'acariens présente au moment de la mise en place de ce traitement.

Il existe une forte corrélation entre la chute de *V. destructor* et l'émergence du couvain d'abeilles. L'avantage de la méthode d'estimation du niveau d'infestation par comptage des *V. destructor* trouvés au fond de la ruche est qu'elle est peu fastidieuse comparée aux autres méthodes. Elle est également non destructive et peut être mise en place par les apiculteurs eux-mêmes. Cette estimation reste toutefois très imprécise. En effet de nombreux paramètres, notamment environnementaux peuvent influencer sur les résultats (Branco *et al.*, 2006 ; Faucon *et al.*, 2007). En outre, cette méthode semble fiable uniquement pour des colonies qui ne sont pas en phase d'effondrement (Branco *et al.*, 2006 ; Lobb et Martin, 1997).

## Partie bibliographique

---



### **INTRODUCTION**

« Si les abeilles devaient disparaître, l'humanité n'aurait plus que quatre années à vivre » cette phrase prononcée par « Albert Einstein » met en valeur le rôle important de l'abeille dans l'équilibre de la faune et de la flore.

L'environnement et l'agriculture sont tributaires de nombreuses et diverses espèces pollinisatrices dont 20.000 espèces d'abeilles dans le monde qui contribuent à la survie et à l'évolution de plus de 80% des espèces végétales (Philippe, 1991 ; Pouvreau, 2004).

L'apiculture occupe une place importante dans l'économie mondiale avec une production de 1.6 tonnes par an. En effet, profitant de l'essor de plus en plus important des médecines naturelles ou dites douces, les produits de la ruche s'inscrivent dans cette tendance, le plus souvent en complément des traitements conventionnels. Miel, gelée royale, propolis, pollen ou encore la cire et le venin d'abeilles trouvent ainsi des applications dans des domaines thérapeutiques très variés (Blanc, 2010).

L'Algérie compte parmi les nombreux pays qui réservent à cette culture un intérêt particulier par la mise en place depuis 1972 d'un certain nombre de programmes de développement apicole « création des coopératives apicoles » (Lakhal, 2010). La production a atteint 48000 tonnes en 2010 et 1,5 million de ruches (FAO, 2010).

Depuis que l'apiculture a évolué de la ruche traditionnelle à la ruche à cadres plusieurs témoignages ont été rapportés par les apiculteurs sur la baisse anormale de la récolte du miel, le plus souvent expliquée par les conditions météorologiques défavorables (Tardieu, 1998 ; Cougard, 1999)

En 1998 de nombreuses études ont été réalisées, afin d'apporter des réponses à la filière apicole suite à la mortalité inhabituelle de colonies d'abeilles. Cette diminution notoire de population de pollinisateurs a été signalée dans de nombreux pays du monde (Bernard, 2000 ; Manus et al, 2003) la conséquence ayant un impacte important sur le rendement du miel (Hopquin ,2002)

En Algérie, de nombreux cas de mortalité de colonies d'abeilles ont été observés depuis 2007. La présence des agents pathogènes dans ces colonies ainsi que leur état sanitaire sont les causes principales de cette létalité (Adjlane et Doumandji, 2011). La varroase est la pathologie la plus connue en Algérie.

L'enjeu économique et écologique représentés par la perte de ces individus a permis d'établir la mise en œuvre de plusieurs analyses et évaluations sur les

maladies des abeilles, du couvain ainsi que leur control, dans le but d'une approche scientifique et pluridisciplinaire basée sur une analyse critique des données disponibles (Faucon *et al.*, 2002 ; Faucon, 2006).

Depuis une cinquantaine d'années à travers le monde, le *Varroa destructor*, parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* est considéré par les spécialistes comme le pire ennemi de l'abeille. Il constitue l'un des grands fléaux de l'apiculture. Cet acarien sape les colonies d'abeilles et peut provoquer des effondrements rapides dès l'automne. (Van Engels dorp *et al.*, 2009; Guzman-Novoa *et al.*, 2010)

Des moyens de lutte efficaces existent à travers l'emploi de traitements acaricides. Mais depuis quelques années, une recrudescence des phénomènes de résistances vis-à-vis ces molécules est observées, ce qui met mal l'utilisation de ces moyens de lutte sur le long terme. (Currie *et al.*, 2010 ; Fries, 2012).

Toutefois, les connaissances de cette maladie des abeilles, épidémiologie ont énormément progressés, ce qui va nous rappeler l'étendue du chemin qu'il reste à parcourir à la recherche de nouvelles voies afin de découvrir des méthodes de gestion du parasitisme pour trouver les moyens de luttés efficaces contre ces maladies.

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

L'étude de l'effet acaricide de l'huile essentielle issue d'une espèce appartenant aux Citrus.

A travers notre démarche scientifique, nous cherchons à répondre aux hypothèses suivantes :

- ❖ Quelle est le rendement et profil chimique de l'huile essentielle de *Citrus limonum* ?
- ❖ L'huile essentielle étudiée présente-t-elle une activité acaricide sur le parasite de l'abeille domestique le « *Varroa destructor* » *in situ* (rucher) et *in vitro*?

# Conclusion

---

## Conclusion

Afin d'aider les apiculteurs à contrôler le parasitisme par le traitement alternatif nous avons essayé à travers cette étude d'évaluer l'efficacité insecticide de l'huile essentielle du citron à différentes concentrations pour déterminer son effet sur le varroa et sur les abeilles et de développer une nouvelle technique qui pourra protéger nos ruchers de la contamination.

Les résultats révèlent que ce traitement présente des potentialités et pourraient être utilisées et exploitées avec succès pour la gestion du parasite *Varroa destructor*.

A partir de cette étude nous pouvons déduire les conclusions suivantes:

- ✓ La cinétique d'extraction d'HE du citron a montré un rendement de «1,2%».
- ✓ l'analyse de la CG/SM nous a permis de connaître la composants chimiques de l'huile essentielle de citron ainsi la prédominance d'un élément majeur à savoir « le limonène ».

L'efficacité du bio-acaricide utilisé dans cette étude nous indique que l'huile essentielle à base de citron présente une forte toxicité sur le varroa et aucun effet néfaste sur les abeilles (pas d'abeilles mortes au fond de la ruche suite au traitement).

Les résultats relatifs aux traitements biologique par l'huile essentielle du citron testée sur la population du varroa cible ont montré que :

- ✓ Les applications réalisées sur le rucher ont enregistré un effet choc les 24 heures, puis qui diminuaient progressivement dans le temps jusqu'à 48 heures mais aux alentours de 72 heures la baisse du nombre varroa a diminué cela pourrait s'expliquer soit par la mortalité total du varroa au sein d'une colonie soit par l'efficacité immédiate et la volatilité de l'huile essentielle du citron, dans les conditions d'environnement sachant que les HE s'altèrent facilement.
- ✓ Les applications réalisées dans les conditions contrôlées (*in vitro*) ont montré une efficacité graduelle à partir des premiers 24 heures, puis qui augmentaient progressivement dans le temps jusqu'à 48 heures pour atteindre le maximum aux alentours de 72 heures.
- ✓ Toutes les doses testées dans cette étude ont présenté une toxicité à l'égard de l'acarien testé.

# Conclusion

---

Nous pouvons conclure qu'à ce stade d'étude, l'acarien a montré une sensibilité accrue à toute la gamme de substance testée, cette sensibilité est en fonction des doses utilisées, des temps d'exposition et de mode d'action.

Les résultats obtenus par cette méthode sont donc très encourageants et pourraient déboucher rapidement sur une méthode fiable pour les apiculteurs. Cette étude, reliée aux travaux effectués sur l'huile essentielle, pourrait aboutir à la mise au point d'une spécialité acaricide anti-varroa complémentaire aux produits de synthèse actuellement sur le marché, du fait de ses caractéristiques biologiques. Il serait même peut-être possible d'allier effet acaricide et effet acarifuge, perturbant le parasite à plusieurs niveaux par les huiles essentielles.

Ces résultats montrent que les huiles essentielles du citron pourraient être applicables à la gestion des populations de varroa, c'est une plate forme primaire pour d'autres études. En fin il serait intéressant qu'HE du citron puisse être utilisé à grande échelle. Il serait intéressant d'approfondir dans l'avenir ces approches afin de confirmer l'efficacité de ce bio-acaricide pour contribuer à la protection des colonies d'abeilles ainsi que le consommateur.

Par ce travail nous avons essayé des plantes de contribuer à élargir le chemin sur les potentialités agro-phytosanitaire des agrumes algériens pouvant être utilisées localement comme bio-acaricide pour la protection des ruchers. C'est un champ de recherche-développement qui mériterait tout l'intérêt des scientifiques, des pouvoirs publics et des acteurs économiques d'autant plus les préoccupations écologiques et environnementales du monde des êtres vivants. Pour cela :

Une étude préliminaire au développement nous semblait donc intéressante à effectuer ; la pulvérisation d'huile ayant des avantages majeurs

- ✓ A court terme, le traitement à l'huile essentielle est parmi les meilleures solutions pour l'apiculteur biologique à la prise avec le varroa car il s'agit d'un produit qui pourra être accepté par les cahiers de charge et autorisé par le gouvernement.
- ✓ Elucider le mode d'action de ces substances bioactives sur la physiologie du *Varroa destructor*.
- ✓ Des études dans ce contexte à grande échelle seraient nécessaires afin de vérifier leur efficacité en condition naturelles et sur un très grand nombre de ruches.
- ✓ L'HE de citron pourrait faire l'objet d'une formulation afin de l'utiliser comme produits stables.

### Conclusion

Afin d'aider les apiculteurs à contrôler le parasitisme par le traitement alternatif nous avons essayé à travers cette étude d'évaluer l'efficacité insecticide de l'huile essentielle du citron à différentes concentrations pour déterminer son effet sur le varroa et sur les abeilles et de développer une nouvelle technique qui pourra protéger nos ruchers de la contamination.

Les résultats révèlent que ce traitement présente des potentialités et pourraient être utilisées et exploitées avec succès pour la gestion du parasite *Varroa destructor*.

A partir de cette étude nous pouvons déduire les conclusions suivantes:

- ✓ La cinétique d'extraction d'HE du citron a montré un rendement de «1,2%».
- ✓ l'analyse de la CG/SM nous a permis de connaître la composants chimiques de l'huile essentielle de citron ainsi la prédominance d'un élément majeur à savoir « le limonène ».

L'efficacité du bio-acaricide utilisé dans cette étude nous indique que l'huile essentielle à base de citron présente une forte toxicité sur le varroa et aucun effet néfaste sur les abeilles (pas d'abeilles mortes au fond de la ruche suite au traitement).

Les résultats relatifs aux traitements biologique par l'huile essentielle du citron testée sur la population du varroa cible ont montré que :

- ✓ Les applications réalisées sur le rucher ont enregistré un effet choc les 24 heures, puis qui diminuaient progressivement dans le temps jusqu'à 48 heures mais aux alentours de 72 heures la baisse du nombre varroa a diminué cela pourrait s'expliquer soit par la mortalité total du varroa au sein d'une colonie soit par l'efficacité immédiate et la volatilité de l'huile essentielle du citron, dans les conditions d'environnement sachant que les HE s'altèrent facilement.
- ✓ Les applications réalisées dans les conditions contrôlées (*in vitro*) ont montré une efficacité graduelle à partir des premiers 24 heures, puis qui augmentaient progressivement dans le temps jusqu'à 48 heures pour atteindre le maximum aux alentours de 72 heures.
- ✓ Toutes les doses testées dans cette étude ont présenté une toxicité à l'égard de l'acarien testé.

## Conclusion

---

Nous pouvons conclure qu'à ce stade d'étude, l'acarien a montré une sensibilité accrue à toute la gamme de substance testée, cette sensibilité est en fonction des doses utilisées, des temps d'exposition et de mode d'action.

Les résultats obtenus par cette méthode sont donc très encourageants et pourraient déboucher rapidement sur une méthode fiable pour les apiculteurs. Cette étude, reliée aux travaux effectués sur l'huile essentielle, pourrait aboutir à la mise au point d'une spécialité acaricide anti-varroa complémentaire aux produits de synthèse actuellement sur le marché, du fait de ses caractéristiques biologiques. Il serait même peut-être possible d'allier effet acaricide et effet acarifuge, perturbant le parasite à plusieurs niveaux par les huiles essentielles.

Ces résultats montrent que les huiles essentielles du citron pourraient être applicables à la gestion des populations de varroa, c'est une plate forme primaire pour d'autres études. En fin il serait intéressant qu'HE du citron puisse être utilisé à grande échelle. Il serait intéressant d'approfondir dans l'avenir ces approches afin de confirmer l'efficacité de ce bio-acaricide pour contribuer à la protection des colonies d'abeilles ainsi que le consommateur.

Par ce travail nous avons essayé des plantes de contribuer à élargir le chemin sur les potentialités agro-phytosanitaire des agrumes algériens pouvant être utilisées localement comme bio-acaricide pour la protection des ruchers. C'est un champ de recherche-développement qui mériterait tout l'intérêt des scientifiques, des pouvoirs publics et des acteurs économiques d'autant plus les préoccupations écologiques et environnementales du monde des êtres vivants. Pour cela :

Une étude préliminaire au développement nous semblait donc intéressante à effectuer ; la pulvérisation d'huile ayant des avantages majeurs

- ✓ A court terme, le traitement à l'huile essentielle est parmi les meilleures solutions pour l'apiculteur biologique à la prise avec le varroa car il s'agit d'un produit qui pourra être accepté par les cahiers de charge et autorisé par le gouvernement.
- ✓ Elucider le mode d'action de ces substances bioactives sur la physiologie du *Varroa destructor*.
- ✓ Des études dans ce contexte à grande échelle seraient nécessaires afin de vérifier leur efficacité en condition naturelles et sur un très grand nombre de ruches.
- ✓ L'HE de citron pourrait faire l'objet d'une formulation afin de l'utiliser comme produits stables.

## Références Bibliographiques

---

### Références Bibliographiques

- Abd El-Wahab, T.E. and M.A. Ebada. 2006. Evaluation of some volatile plant oils and mavrik against *Varroa destructor* in honeybee colonies. J. Appl. Sci. Res. 2 (8): 514-521.
- Abdel-Rahman M F and Rateb SH (2008). Evaluation of lemon juice for controlling *Varroa destructor* in honeybee colonies. J. Appl. Sci. Res. 13 : 510-523.
- Achou, M. et Rouibi, A. 2009. Morphometrical study of parasitic bee mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Algeria. *Proceeding Apimondia*, 41rst, 15-20 septembre, Montpellier, France.
- Acta (2008) Index Phytosanitaire ACTA 2008, 44e Edition, Technique 149 rue de Bercy 75595 Paris.
- Adjlane N, Doumandji S, (2011). La varroase , biologie, diagnostic et traitement ; situation actuelle de la varroase en Algérie. 2011. ; La varroase : biologie, diagnostic et traitement ; situation actuelle de la varroase en Algérie. *Pratique vétérinaire* 2011 ; 9 : 8-11.
- AFNOR, 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, 325 p
- Afssa. (2008) Mortalité effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. Document Technical. Report EFSA 2008-428 .final. Pdf. Sbinary .true. 154, 1-28.
- Albisetti, J. (1998) Pathologie : un groupe d'agents pathogènes de l'abeille : *Spiroplasma apis*. OPIDA. Bulletin Technique Apicole 101, (25), 5.
- Alétru, F (2008) Les abeilles vont-elles disparaître ? L'Oiseau magazine 90, 24 - 27.
- Alix, A., Delos, M., Mercier, T. (2008b) Risks to bees from dusts emitted at sowing of coated seeds: concerns, risk assessment and risk management. ICPBR meeting, Hazards of Pesticides to Bees, 8-10 Octobre 2008, Bucarest.
- Alphandery R. La route du miel. Le Grand Livre des Abeilles et de l'Apiculture, Paris, Nathan, 2002, 288p
- Auger J and Thibout E. Induced response of the leek to attacks of the leek moth. Consequences on host foraging behaviour of the parasitoid, *Diadromus pulchellus*. 8<sup>th</sup> European Workshop on Insect Parasitoid. Tours, France (2002).
- Alphonse J (2011). Un petit rucher bio, éditions plaisirs nature, p.88
- Anderson DL, Sukarsih D (1996). Changed *Varroa jacobsoni* reproduction in *Apis*

## Références Bibliographiques

---

- mellifera* colonies in Java. *Apidologie*, 27, 461-466.
- Anderson, D.L. et Trueman, J.W. (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24, (3), 165-189.
  - Anonyme (2011). *Apis mellifera*. In : *Wikipédia* [en-ligne], (modifiée le 16 novembre 2011), *Apis mellifera* &oldid=62595310] (consultée le 25 novembre 2011)
  - Bacher R (2006). L'ABC du rucher bio, éditions terre vivante, p.69
  - Belaïche P., 1979. Traité de phytothérapie et l'aromatothérapie. Tome1 L'aromatogramme. Ed : maloine S.A., Paris, 204 p.
  - Belaid M, Doumandji S (2010). Effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis mellifera intermissa*. *Lebanese Science Journal*, 11, 83-90.
  - Biri, M. (2002) Le grand livre des abeilles, cours d'apiculture moderne. De Vecchi Editions. Paris, pages 109-137
  - Blanc, M (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche, Université de Limoge. 142 pp
  - Bouguera A., Berkani M. I., Ghalemz.S et Benyoucef M.T(1995 ). Contribution a l'etude de l'homogeneite de la race locale « *Apis mellifera intermissa* » dans les differentes regions du nord de l'Algerie. I.N.A 16200 Alger (Algérie).
  - Bousbia N (2004). Extraction et identification de quelques huiles Essentielles (nigelle, corindre, origan, thin, romarin). Etude de leur activité antimicrobienne. Thèse de magister. INA. Algérie.
  - Bouzuita et al. (2008). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne, insecticide de l'huile essentielle *Juniperus phoeniceae*.
  - Branco MR, Kidd NAC, Pickard RS (2006). A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation. *Apidologie*, 37, 452-461.
  - Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 915p.
  - Bruneton J., 1999 .Pharmacognosie – Phytochimie-Plantes médicinales. 3e éd., Tec et Doc, Paris, 39 : 293-303.
  - Caillas, A. (1986). Les méthodes modernes d'apiculture à grand FNO-MAN, FNOSAD, Manuel de l'apiculteur spécialiste, FNOSAD, 110 p. Centre Suisse de



## Références Bibliographiques

---

recherche apicoles. *comportementales, chimiques et génétiques*. Thèse de doctorat, Paris Sud, France, 199 p.

- Channane N, (2010 ). Réhabilitation et préservation de l'abeille saharienne . art, ITELV.
- Charrière J D, Imdorf A, Kilchenmann V, Bachofen B, Bogdanov (1998). Comment faire face à la recrudescence des *varroa* résistants? *communications de la section apiculture*, 28.
- Choquet, J. (1992). L'apiculture simplifiée, Maison Rustique.
- Clement H. (2006). Le Traité Rustica de l'Apiculture, 2° Edition, Paris,
- Clément H (2011). Les bons gestes de l'apiculteur, rustica éditions, p.33
- Colin, M. E., Bonmatin, J. M., Moineau, I., Gaimon, C., Brun, S. et Vermandere. J. P. (2004) A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: Relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47, 387-395.
- Colin, M.E., Fernandez, G.P. et Ben Hamida, T. 1997. Varroasis. *Options Méditerranéennes*, série B, (25) : 121- 142.
- Colin. ME (1989). Pouvoir pathogène de *Varroa jacobsoni* et conséquences pour la conduite du traitement de la varroatose de l'abeille. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 8, 221-226
- Colin. ME (2011) Bases de traitement de la varroose. *Polycopié de cours*.
- Colin. ME, Garcia- fernandez P, Ben hamida. T (1999) Varroosis. *In* : Colin ME, BALL BV, KILANI M (eds). *Bee disease diagnosis*, CIHEAM, Zaragoza, 121-142.
- 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.
- Contributeurs de Wikipédia (e), Insecte. *In* : *Wikipedia* [en-ligne], (modifiée le 26 novembre (2012), [<http://fr.wikipedia.org/wiki/Insecte>] (consultée le 28 novembre 2012).
- Contributeurs de Wikipédia (i), Apidae. *In* : *Wikipedia* [en-ligne], (modifiée le 12 juin 2011), [<http://en.wikipedia.org/wiki/Apidae>] (consultée le 28 novembre 2011).
- Cougard, M.J. (1999) La disparition mystérieuse des abeilles. *Le Figaro* du 2 novembre 1999.
- Currie R., Guzman E. et Pernal, S. (2010). Honey bee colony losses in Canada, *Journal of Apicultural Research*, vol. 49 (1), p.104-106.

## Références Bibliographiques

---

- De Vericourt, M. (2007) Abeilles : Pourquoi meurent-elles toujours ? Science et vie, (1073), 78-81.
- Delaplane, K.S. 1992. Controlling tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) with vegetable oil and menthol. *Journal of Economic Entomology* 85(6): 2118-2124
- Delaquis P.J., Stanich K., Gerard B, Mazza G., (2002). Antimicrobial of individual and mixed fraction of dill. Cilantro, Coriander and Eucalyptus essential oil. *International journal of food microbiology*. 74(1-2), 101-109.
- Djinane D., Sanchez-Escalante A., Beltran J.A., Rancales P (2002). Ability of  $\alpha$ -tocopherol, taurine rosemary in combination with vitamine C, to increase oxtative stability in modified atmosphere. *Food chemistry*, 76, 407-415.
- Djinane D., Yanguela G., Amrouche T., Boubrit S., Bousaad ., N & Roncales P (2011a). Chemical composition and antimicrobial Effects of Essential oils of *Eucalyptus globules Martys communes* , *Saturija hortensis* against *Eschirichia coli* 0157:H7 and *Staphelococcus aureus* in minced beef food control, 22, 1046-1053
- Djinane D., Yanguela G., Montanes L., Djerbal M & Roncales. (2011b). Antibacterial activity of *Pestacia lentiscus* and *saturija Montana* essential oil against *Lesteria monocytogene* CECT 935 using laboratory medie ; efficacy and synergitic potential in mincing beef. *Food control*, 22.1046-1053. Science and Technology international. DOI, 1177/108.
- Donzé, G. 1995. Adaptations comportementales de l'acarrien ectoparasite *Varroa jacobsoni* durant sa phase de reproduction dans les alvéoles operculées de l'abeille mellifère, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 159p.
- Douhet et al, 1977 : l'abeille de A à Z. embryologie, anatomie 88p.
- Dubois E(2006). Découverte des agrumes et atelier d'hiver au jardin. Manifestation organisée par le Club Local Jardiniers de Marsillargues.13, 102-107
- Ellis JD, Zettel Nalen CM (2010). *Varroa* Mite, *Varroa destructor* Anderson and Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae). In: University of Florida, Document EENY-473.
- FAO (2010). La production mondiale a atteint 1 496 000 tonnes en 2008, selon la FAO
- FAO . Food Agriculture Organisation, (2004)
- FAO, 2006. Répartition des vergers agrumicoles Algériens.

## Références Bibliographiques

---

- Faucon, J P(1992). Précis de pathologie, connaitre et traiter les maladies des abeilles. Edition CNEVA 183 pp.
- Faucon, J.P. (2006) Mortalités hivernales 2005-2006. Abeille Française, (212), 485-488.
- Faucon, J.P. et Ribière, M. (2003) Les causes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Bulletin des GTV. Maijuin-juillet 2003, (20), 15-18.
- Faucon, J.P., Drajnudel, P. et Fléché, C. (2001) Lutte contre la varroase : contrôle de l'efficacité des médicaments ayant une AMM. Abeille de France, (872), 341-343.
- Faucon, J.P., Drajnudel, P., Chauzat, M.P. et Aubert, M. (2007a) Contrôle de l'efficacité du médicament Apivar ND contre *Varroa destructor*, parasite de l'abeille domestique. Revue de Médecine Vétérinaire
- Faucon, J.P., Mathieu, L., Ribière, M., Martel, A.C., Drajnudel, P., Zeggane, S., *et al.* (2002). Honey bee winter mortality in France in 1999 and 2000. Bee World 83, (1), 14-23.
- Faucon, J.P., Vitu, C., Russo, P. et Vignoni, M. (1992) Diagnostic de la paralysie aiguë : application à l'épidémiologie des maladies virales en France en 1990. Apidologie 23, (2), 139-146.
- Fries I (2012). Situation de l'apiculture en Algérie : facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. Etude originale ; cahiers Agricultures. Vol. 21, Numéro 4, 235- 241pp
- Fries I et Camazine S (2001). Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. Apidologie 32 (2001) 199-214
- Ferhat M. A., Meklati B.Y Chemat F., (2010). Citrus d'algerie. Les huiles Essentielles et leur procédé d'extractions. Publication universitaire. Ed : 5130, 155 pp.
- Garnéro J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur
- Gout J. Le miel et les hommes, Thionville, Gérard Klopp, 1991, 249p
- Gustin Y (1984). Les abeilles et nous, Syndicat national d'apiculture.
- Guzman-Novoa E., Eccles L., Calvete Y., McGowan J., Kelly P. et Correa-Benitez. A. (2010). *Varroa destructor* est le principal responsable de la mort et de la réduction des populations de colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) après hibernation en Ontario, Canada , Apidologie vol. 41 (4), p. 443-451.

## Références Bibliographiques

---

- Hopquin, B. (2002) Les apiculteurs accusent un insecticide de tuer les abeilles. Le Monde du 25 juin 2002.
- Idir, L. (2010). Activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles extraites à partir de quelques espèces végétales de la région de la Kabylie. Mémoire de magister. *Option technologie agro-alimentaire*. Université M'hamed Bougara Boumrdes.
- Imdorf, A. et Gezig, L. (1991) Guide d'évaluation de la force d'une colonie. Centre Suisse de Recherche Apicole. Station de Recherches Laitière. Liebefeld, Ch-3003 Berne. 4 pages.
- Imdorf, A.; J.D. Charriere; C. Maquelin; V. Kilchenmann and B. Bachofen. (1996). Alternative varroa control. *Amer. Bee J.* 136, 189-193.
- Imdorf, A.; S. Bogdanov; R.I. Ochoa and N.W. Calderone. (1999). Use of essential oils for control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honeybee colonies. *Apidologie* 30, 209-228.
- INRA (2007). Etude de base sur les Agrumes en Algérie.
- Isman M.B (1999). Insecticidal activity of essential oils of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura*, *Fitoterapia*, 72, 65-68.
- Jean-Prost, P. (1990). Apiculture, connaître l'abeille-conduire le rucher, Sixième édition. Paris : Tec & Doc, 581 p.
- Jocteur-Monrozier (2006). Prion degradation in soil : Possible role of microbial enzymes stimulated by the decomposition of buried carcasses”, *Environmental Science & Technology*, 40, doi: 10.1021/es060943h, RIS, BibTeX.
- Kelen M & Tepe (2008). Chemical composition, antioxydant, antimicrobial proprieties of essential oil of three *Salvia* species from turkish bioresource technology, 99, 4096-4104.
- Klöppel et Kördel (1997), Koch *et al.*, (2003) et Rautmann *et al.*, (2001).
- Klöppel, H. et Kördel, W (1997). Pesticide volatilization and exposure of terrestrial ecosystems. *Chemosphere* 35, (6), 1271-1289.
- Koch, H., Weißer, P. et Landfried, M. (2003) Effect of drift potential on drift exposure in terrestrial habitats *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 55, (9), 181-188.
- Kralj, J. and Fuchs, S. 2003. Influence of *Varroa* destructor on flight behaviour of infested bees. *Proceeding Apimondia 38 th*, Slovenia, p. 480.

## Références Bibliographiques

---

- Lafleche B (1991). Guide pratique de l'apiculture amateur, Solar.
- *Lakhal* M (2010). Apiculture. Les producteurs de miel prévoient une baisse de la production de 40 % en 2013, Président de la Fédération algérienne des associations d'apiculteurs (Faaa). 6<sup>e</sup>.Edition du Salon régional du miel, du 26 juin au 7 juillet à la ALGER.
- Lamara- Mohamed M (2012). Comparaison entre l'effet acaricide de trois doses (0,1, 0,3, 0.5) d'huile Essentielle de *Thymus vulgaris* sur *Varroa jacobsoni* d'*Apis mellifera* au cours d'une période hivernal dans la Wilaya de Djelfa. Thèse d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. Université Saad Dehleb.
- 
- Le Conte Y. et Ellis, M. (2008) Mortalités et dépopulations des colonies d'abeilles domestiques : le cas américain. Biofutur, (284), 49-53.
- Le Conte, Y. 1990. *Contribution à l'étude des relations abeille-Varroa: approches*
- Le Conte, Y. et Navajas, M. (2008) Climate Change : impact on honey bee populations and diseases. Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizoties 27, (2), 499-510.
- Le conte Y, Arnold G, Desenfant PH(1990a). Influence of brood temperature and hygrometry variation on the development of the honey bee ectoparasite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata : Varroidae). *Environ. Entomol.*, 19, 1780-1785.
- Léoncini, I. 2002. Phéromones et régulation sociale chez l'abeille *Apis mellifera*: Identification d'un inhibiteur du développement comportemental des ouvrières Thèse de doctorat, INRA Paris –Grignon, 254p.
- Lodesani M., Crailsheim K., Mortiz R.F.A., 2002 Effect of some characters on the population growth of mite *Varroa jacobsoni* in *Apis mellifera* L. Colonies and results of a bidirectional selection. *J.Appl.Ent.*, 126, 130-137
- Lota M.R (1999). Les huiles Essentielles d'Agrumes : Caractérisation par RMN du carbone-13 CPG-IK et CPG/ SM. Thèse de doctorat d'état, Université de Corce-Pascal Paoli, (France).
- Louveaux J.J. (2004). Chronique historique de la zoologie française – les abeilles et l'apiculture : (Ouvrage-article), INRA , 2004, 96 pp.
- Makimov A, Yastrstrebtsov AV (1984). Reproductive system of *Varroa jacobsoni*. Female reproductive system and oogenesis. *Vestn. Zool.*, 6, 61-68.

## Références Bibliographiques

---

- Marcangeli, J., Monetti, L. and Fernandez, N. 1992. Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie*, 23 (5): 399-402.
- Martin, S. J. (1998). A population model of the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109, (3), 267-281.
- 
- Martin, S.J. (2004) Acaricid (pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. *Bee World* 4, (85), 67-69.
- Milani, N. 2001. Activity of oxalic and citric acids on the mite *Varroa destructor* in laboratory assays. *Apidologie* 32, 127-138.
- Ministère de l'Agriculture, (2011).
- Mohammedi Z (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Option Produits naturels. Activité biologique. Synthés .Faculté des sciences. ABB.Tlemcen. Algerie
- Moufida S et Merzouk B (2003). Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*, 62(8), 12831-289
- Moreira MR., Ponce A G., Del Valle C E & Roura S I (2005). Inhibitory parameters of essentials oils to reduce a foodborne pathogen. *Food and science Technology*,38, 565-570.
- Nguyen BK *et al.* (2009). Colony Collapse Disorder: A descriptive Study. *PloS One* 4, e6481.
- Nogata Y., Sakamoto K., shiratsuchi H., Ishii T., Yano M & Ohta H (2006). Flavanoid composition of fruit tissue of citrus species. *Bioscience. Biotechnology and Biochemistry*, 70 (1),178-192.
- Padrini P. et Lucheroni M.T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles –guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences. Ed : De Vecchi, Paris. Pages 11,15, 61 et 111.
- Paris P.R., Moysse. H (1981) « Abrégé de matière médicale » (résumé).
- Péguin, P. 1987. Apiculture: vers une lutte biologique contre la varroase. *Les Quatre Saisons du Jardinage*, n 46: 45-48
- Péguin. P. 1991. L'apiculture bio face au varroa. *Nature et progrès*, n123: 27-28.

## Références Bibliographiques

---

- Peyron L. et Richard H., 1992. Extraction des épices et herbes aromatiques et différents types d'extraits. Epices et aromates. Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris. 108p.
- Philippe J.M (1991). La pollinisation par les abeilles ; Edisud. Broché.182 pp
- Porter N., 2001. Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39.
- Praloron J.C. Les agrumes, Maisonneuve G.P et Larose, édit Paris, 1971.
- Rai M.K., Acharya D. et Wadegaonkar P (2003). Plant derived-antimycotics : potential of Acteraceous plants. In : Plantb-derived antimycotics : Current trends and future prospects, Haworth Press, N-York, Londin, Oxford. 165-185.
- Rautmann, D., Streloke, M. et Winkler, R. (2001). New basic drift values in the authorisation procedure for plant protection products. Workshop on Risk assessment and risk mitigation measures in the context of the authorisation of plant protection products. Forster, R. et Streloke, M. Editors Mitt. Biol. Bundesanst.Land-Forstwirtschaft. Berlin Dahlem.
- Ravazzi G (2007). Abeilles et apiculture.ed devecchi, 159p.
- Rega B., Fournier N., Guichard E., Russel R. (2003).Citrus flavour. *Journal of - agricultural and food chemistry* 51, 117-133.
- Rembold H, Kremer JP, Ulrich GM (1980). Characterization of postembryonic developmental stages of the female castes of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 11, 29-38
- Rickli, M. 1991. Treatment against varroatosis using compounds of essential oils. *Apidologie*, 22(4): 417-421.
- Riondet .J (2010). L'apiculture mois par mois, aux éditions Ulmer, p.158
- Robert A. et Lobstein A., 2005. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 522 p.
- Russell, D., Meyer, R. et Bukowsky, J. (1998) Potential impact of microencapsulated pesticides on New Jersey apiaries. *American Bee Journal* 138, (3), 207-210.
- Sammaturo et al. (1994). Controlling tracheal mites (Acari: Tarsonemideae) in honey bees (Hymenoptera: Apidae)with vegetable oil" *Journal of economic Entomology*, vol. 87, no. 4, 1994, page 910-916.
- Schneider, P. and Drescher, W. 1987. Einfluss der parasitierung durch die Milbe *Varroa Jacobsoni* auf dasSchlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrusen und die Lebens-dauer von *Apis mellifera*. *Apidologie*, 18 (1):

## Références Bibliographiques

---

- Senatore F., Napolitano F & Ozkan M (2000). Composition of antibacterial activity of essential oil from *Critmum maritimum*. L (Apiceae) growing wild in Turkey. *Flavour and Fragrance journal*,15, 186-189.
- Sharma S.K. et Maguer M.L (1996). Kinetics of lycopène degradation in tomato pulp solid under different processing and storage condition. *Food Research International*, (29) : 309 -315.
- Smirnov, A.M.; A.V. Aleskseenok and N.N. Shutov. 1984. Results of a test of the plant acaricidal preparation KAS-81 for the control of *Varroa* infestations of honeybees. *Veterinarnoi Sanitarii*, Moscow: 69-77 (A.A. 618/88).
- Stalleger, P. 1989. L'apiculture biologique face au varroa (suite). *Nature et Progrès*, n108: 19-21.
- Su et al (1972) in Yves Le Conte et al. (2009). Utilisation d'huiles végétales ou minérales un outil potentiel dans la lutte contre *Varroa jacobsoni*. *INRA, Unité de Zoologie et Apidologie. Ed. Rev. Abeille de France. 8 (2) 143-151.*
- Swingle W., Reece P.C. (1968). The botany of Citrus and Relatives in "The Citrus Industry", Univ. of California, Berkeley, W. Reuther, L.D. Batchelor and H.J. Webber, editors, 1967,190-430.
- Tardieu V (2009). L'étrange silence des abeilles, éditions Belin, p.309 à 315 apiculture – Versailles, France : INRA Edition, 96 p.
- Tardieu, V. (1998) Les apiculteurs accusent le Gaucho d'empoisonner leurs abeilles. *Le Monde* du 18 avril 1998.novembre 1999.
- Toma B, Alix A, Brown M, Carpentier P, Chabert-Ribière M, Chauzat MP, Delorme R et al. (2009). Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. Rapport de l' Afssa, Maisons-Alfort, France, 218 p.
- Vandame et Colin (1997). Examen de la descendance de varroa. *L'abeille de France* n° 891 partie 2, pp-361
- Vandame R (1996). Importance de l'hybridation de l'hôte dans la tolérance à un parasite. Cas de l'acarien 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, 126 p.
- Vanengelsdorp D, Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, NGUYEN BK et al. (2009). Colony Collapse Disorder: A descriptive Study. *PLoS One* 4, e6481.



## Références Bibliographiques

---

- Vekiari S.A., Protoparadakis E.F., Paradoupoulou P., Paranicolaou D., Panou C., Vamvakias M (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of lemon variety. *Journal of agricultural and food Chemistry*. 5 (1), 147-153.
- Vincent Albouy (2012). Des abeilles au jardin, aux éditions Édisud, p.135
- Weinberg, K.P. and Madel, G. 1985. The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud on the protein concentration and the hemolymph volume of brood of worker bees and volume of brood of worker bees and drones of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 16(4): 421-436.
- Windling P (2012). *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000), Un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. revue bibliographique de l'étude de sa reproduction.
- Winston ML (1993). La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Edition Frison Roche, Paris.
- 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
- Zahradnik J. *Apis mellifera* in Insectes, Paris, Grund, 1991, p.225.
- Zhiri A (2006). Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra news. Sciences nutrition, prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix, 12,8.