



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**ETUDE DE L'EFFET ACARICIDE D'HUILE ESSENTIELLE DE CITRONNIER
(CITRUS LIMON) SUR LE PARASITE D'ABEILLE (*VARROA JACOBSONI*)**

Présenté par
**KERROUCHE HIND
KHEFOUS IBTISSEM NARIMANE**

Devant le jury :

Président(e) :	KEBOUR D.	Pr	Université blida1
Examineur :	OUCHENE N.	MCA	Université blida1
Promoteur :	MEKADEMI K.	Docteur vétérinaire	Université blida1

Année : 2019 /2020

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils cessent de me combler. Que dieu leur procure la bonne santé et longue vie.

A ceux que j'aime beaucoup mon frère Abdelmalek et ma petite sœur Aya Sarah.

A toute ma famille, mes amis, à mon binôme Narimaneet sa famille.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

« Hind »

Dédicace

A ma chère maman, pour tous ses sacrifices, son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières tout au long de mes études.

A mon père, décédé trop tôt, Que le Dieu lui fasse miséricorde et le place dans ses havres.

A ma seule chère sœur Sihem pour ses encouragements permanents, et son soutien moral.

A toute la famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaires.

A mes amis et à mon binôme Hind.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués.

Merci d'être toujours là pour moi.

« Ibtissem Narimane »

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, Le courage et la patience pour pouvoir accomplir ce modeste travail.

On commence par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre promotrice **M^{me} MEKADEMI Karima** qui nous a fait l'honneur d'avoir veillé et dirigé ce travail par ses conseils pertinents, ses aides précieuses et chaleureuses. Qu'elle trouve ici nos sentiments de reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont également à notre directrice **M^{me}KEBOUR Djamila**, pour son aide, son encouragement et conseils.

Nos remerciements vont à **D^r OUCHENE** pour ses précieux conseils.

Un grand merci à **M^r Ghribi Youcef**, apiculteur, pour ses explications techniques, son aide précieuse et généreuse au rucher et sa disponibilité.

Résumé

Les abeilles, en plus de leur production de miel, assurent la pollinisation des arbres fruitiers et des autres cultures entomophiles. Toutes menaces sur ces insectes, qu'elle provienne des pesticides, des herbicides ou des maladies, a donc des conséquences lourdes non seulement pour l'apiculture, mais aussi pour l'agriculture générale.

Depuis plusieurs années, nombreux sont les apiculteurs en Algérie qui ont signalé des mortalités dans leurs ruchers.

A l'heure actuelle, le varroa est considéré par tous les apiculteurs comme étant le parasite le plus dangereux de l'abeille tellienne (*Apis mellifera intermissa*).

Le présent travail porte sur l'application d'un traitement à base d'huile essentielle de citron (*Citrus limonum*) sur le *Varroa jacobsoni*. Ce travail peut favoriser le développement du secteur Algérien des plantes aromatiques et offre une alternative à la thérapie chimique pour les abeilles.

En raison des circonstances actuelles et des restrictions dues au Covid-19, il nous est malheureusement impossible de poursuivre nos recherches scientifiques.

Mots clés :

Apiculture, *Apis mellifera intermissa*, *Varroa jacobsoni*, *Citrus limonum*, Huile essentielle.

المخلص

النحل،بالإضافة إلى إنتاجه للعسل،بضمن تلقيح أشجار الفاكهة وغير هامن المحاصيل المحبة للحشرات. وبالتالي فإن أي تهديد لهذه الحشرات،سواء من مبيدات الآفات أو مبيدات الأعشاب أو الأمراض،له عواقب وخيمة ليس فقط على تربية النحل،ولكن أيضًا على الزراعة العامة .

لعدة سنوات،أبلغ العديد من النحالين في الجزائر عن نفوق في مناحلهم .

يعتبر جميع النحالين حاليًا طفيل الفاروا أكثر الطفيليات خطورة في نحلة التل (*Apis mellifera intermissa*) .

هذا البحث يتعلق بتطبيق علاج من أساس الزيوت الأساسية لنبات الليمون (*citrus limonum*)،كمبيد ضد طفيل الفاروا (*varroa jacobsoni*) الذي يعتبر من أخطر أعداء نحل العسل التلي. (*Apis mellifera intermissa*) هذا بهدف تطوير النباتات العطرية الجزائرية وتوفير بديل للمواد الكيميائية . لسوء الحظ ، بسبب الظروف والقيود الحالية بسبب Covid-19،من المستحيل بالنسبة لنا أن نواصل بحثنا العلمي.

كلمات البحث:

تربية النحل، مبيد حيوي، زيوت أساسية، أبيس مليفيرا، فاروا جاكوبسوني.

Summary

Bees, in addition to their production of honey, ensure the pollination of fruit trees and other entomophilic cultures. Any threat to these insects, whether it comes from pesticides, herbicides or diseases, can cause serious consequences not only for beekeeping, but also for general agriculture.

For several years, many beekeepers in Algeria have reported mortalities in their apiaries. Varroa mites are currently considered by all beekeepers to be the most common parasite. Most dangerous of the tell bee (*Apis Mellifera Intermissa*).

The present work relates to the application of treatment based on essential oil of lemon (*citrus limonum*) on varroa jacobsoni. This work can promote the development of algerian sector of aromatic plants and offers an alternative to chemical therapy for the bees.

Due to current circumstances and restrictions caused by Covid-19, we are unfortunately unable to continue our scientific research.

Keywords :

Beekeeping, Apis mellifera intermissa, Varroa jacobsoni, Citrus limonum, Oil essential.

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur l'abeille

1.Présentation de l'abeille.....	3
1.1.Définition de l'abeille.....	3
1.2.Systématique.....	3
1.3.Morphologie de l'abeille.....	4
1.3.1.La tête.....	5
1.3.2.Le thorax.....	5
1.3.3.L'abdomen.....	5
1.4.La colonie d'abeille.....	6
1.4.1.La reine.....	6
1.4.2.L'ouvrière.....	6
1.4.3.Les faux bourdons.....	7
1.5.Cycle de vie de l'abeille.....	7
1.6.Produits de la ruche.....	7
1.6.1.Le miel.....	8
1.6.2.Cire d'abeille.....	9
1.6.3.La gelée royale.....	9
1.6.4.Le pollen.....	9
1.6.5.La propolis.....	9
1.6.6.Le venin.....	10
2.Les maladies et les ennemies d'abeille.....	10

Chapitre 2 : Généralité sur la varroase

2.1.Généralité et Historique.....	12
2.1.1.Agent causal.....	13
2.1.2.L'hôte réceptif.....	13
2.1.3.La systématique du varroa.....	14
2.2.Morphologie du varroa.....	14
2.3.Cycle de développement.....	16
2.4.La nutrition.....	18
2.5.Moyens de lutte contre varroa jacobsoni.....	18
2.5.1.Lutte par la réalisation de traitements acaricides.....	18
2.5.2.Lutte biologie.....	19
2.5.3.Lutte physique.....	20
2.5.4.Plantes répulsives.....	20

Chapitre 3 : Présentation de l'espèce végétale Citrus Limonum

3.1.Généralités sur les huiles essentielles.....	21
3.1.1.Historiques et origines des HE.....	21
3.1.2.Définition.....	21

3.1.3. Localisation des huiles essentielles dans la plantes.....	22
3.1.4. Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles.....	22
3.2. La toxicité des huiles essentielles.....	24
3.3. Historique sur l'espèce végétale citrus limonum.....	24
3.4. Classification systématique.....	25
3.5. L'utilisation des huiles essentielles.....	26

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

1. Objectif du travail.....	28
2. Présentation de la zone d'étude.....	28
2.1. Critères de choix du site.....	28
2.2. Les conditions de travail.....	28
3. Matériel biologique.....	28
3.1. Matériel animal.....	28
3.2. Matériel végétale.....	29
4. Matériel non biologique.....	29
4.1. Matériel apicoles.....	29
5. Méthode.....	30
5.1. Méthode d'extraction.....	30
5.2. Détermination du rendement en huile essentielle.....	32
5.3. Préparation des doses des huiles essentielles.....	32
5.4. Présentation des lots expérimentaux.....	33
5.5. Méthode d'estimation du nombre de varroa dans la colonie.....	33
5.6. Méthode d'estimation du nombre d'abeille dans une colonie.....	33
5.7. Méthode d'estimation du taux d'infestation d'une colonie.....	34

Chapitre 2 : Résultats et Discussions

1. Etude l'efficacité d'huile essentielle de citrus limon sur le varroa jacobsoni d'Apis mellifera intermissa.....	35
1.1. Résultats.....	35
2. Conclusion.....	37

Liste des Abréviations

- **%** : Pourcentage.
- **A** : Nombre de varroa morts pendant un mois
- **B** : la mortalité journalière de varroa obtenue par une simple dilution A /29 jours.
- **C** : Nombre de varroa estimé dans une colonie en faisant la multiplication $C = B \times 90$ jours (90 jours correspond a la durée de vie des femelles varroas)
- **P** : Nombre d'abeilles estimées dans une colonie.
- **F.A.Q** : Feed Agriculture organisation.
- **F.A.Q** : Fédération des apiculteurs de Québec.
- **G** : gramme.
- **KG** : Kilogramme.
- **J** : Jour.
- **MI** : Millilitre.
- **CM** : centimètre.
- **R** : rendement de l'huile essentielle en %.
- **PB** : quantité de l'huile essentielle en g.
- **PA** : quantité du végétale en g.
- **D°lio** : Le taux d'infestation initiale.

Liste des figures

Recherche bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur l'abeille

Titre de la Figure	page
Figure 01 : <i>Apis mellifera</i>	3
Figure 02 : <i>Apis mellifera</i>	4
Figure 03 : Morphologie de l'abeille.....	4
Figure 04 : Les acteurs de la ruche.....	7

Chapitre 2 : Généralité sur la varroase

Figure 05 : Propagation de varroa destructor.....	12
Figure 06 : Varroa destructor.....	14
Figure 07 : Varroa adulte femelle.....	15
Figure 08 : Protonymphe, deutonymphe, mâle adulte.....	16
Figure 09 : Principaux étapes de cycle de reproduction du varroa.....	17

Chapitre 3 : Présentation de l'espèce végétale Citrus Limonum

Figure 10 : distillation à la vapeur d'eau.....	22
Figure 11 : L'huile de citron.....	25

Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

Figure 12 : Présentation de la colonie d' <i>Apis mellifera intermissa</i>	29
Figure 13 : Abeilles infectées par le varroa.....	29
Figure 14 : Présentation d'une ruche.....	29
Figure 15 : Matériel d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.....	31
Figure 16 : Disposition de lanière en papier buvard portant le traitement, sur les langes graissés.....	33

Chapitre 2 : Résultats et Discussions

Figure 17 : L'écorce de citron *citrus limon*.....35

Figure 18 : Test de toxicité de l'huile essentielle.....36

Liste des tableaux

Titre du tableau	page
Tableau 1 : Les durées de développement des trois castes.....	8
Tableau 2 : Les maladies d'abeilles.....	11
Tableau 03 : Le protocole expérimental de traitement.....	33
Tableau 04 : Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches avant traitement par l'HE de citrus limon.....	36

INTRODUCTION :

L'Abeille constitue un élément indispensable de l'équilibre environnemental dans le monde en tant que pollinisateur de très nombreuses espèces. Elle présente aussi d'autres intérêts dont : la production de miel, de propolis, de gelée royale et de cire. Au cours de la dernière décennie, plusieurs témoignages et articles ont rapportés un affaiblissement et une mortalité inhabituelle des colonies d'abeilles dans plusieurs pays du monde.

Dans son environnement, l'abeille est soumise à divers facteurs tels que les prédateurs, les bactéries, les champignons, les parasites, les résidus des pesticides (Henry et *al*, 2012 ; James & Xu, 2012), agissant seuls ou en synergie et contribuant à l'affaiblissement et à la mortalité des colonies d'abeilles (VanEngelsdorp et *al*, 2009 ; VanEngelsdorp&Meixner, 2010), leurs taux de mortalité atteint 30 à 35%, taux anormalement élevé, et qui peut atteindre dans certains cas les 50% de pertes en périodes hivernales et 30% à 40% de pertes en périodes printanières (Boucher, 2010).

Une conjoncture de plusieurs facteurs semble expliquer ce problème, mais l'on pointe en première ligne les aléas climatiques (chute de température, neige, sécheresse) et la maladie parasitaire contagieuse de l'abeille et de son couvain engendrée par le varroa agent de la varroase (Fernandez & Coineau, 2002), qui infeste l'abeille domestique *Apis mellifera*.

L'utilisation des acaricides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus adaptée pour lutter contre le varroa à cause de son efficacité et son application rapide et facile, cependant que leur emploi intensifs créant des générations de varroa résistantes à ces produits, et en plus ils peuvent provoquer une pollution des produits des ruches et l'affaiblissement des colonies, ils sont toxiques, non seulement pour les abeilles, mais également pour les produits de la ruche. Dans ce contexte, l'orientation vers la lutte biologique avec des moyens naturelles tels que les huiles essentielles des plantes aromatiques offrent une solution valide car leurs présence est normale dans l'ambiance de la ruche (Colin et *al.*, 1990). De nombreuses huiles essentielles végétales ont un effet antiparasite, elles agissent sur le comportement et le développement de certains arthropodes et parfois peuvent être mortelles.

L'objectif de ce travail :

1. D'étudier l'effet acaricide de l'huile essentielle de *Citruslimonum*.
2. Déterminer la dose la plus efficace pour neutraliser ce parasite.

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I :

Généralités sur

l'abeille

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

I. Présentation de l'abeille :

I.1. Définition de l'abeille :

L'abeille est un insecte social appartenant à l'ordre des hyménoptères (Plataux et *al.*, 1982). Elle est présente sur terre depuis plus de 60 millions d'années (Schaker, 2008). Il existe près de 950 races d'abeilles, les mieux connues et les plus utilisées en apiculture sont dans l'espèce *Apis mellifera* comportant plusieurs races géographiques qui peuplent actuellement l'Europe, l'Afrique, l'Asie Occidentale, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Australie et la nouvelle Zélande (Giraudet,2008).



Figure 01 : *Apis mellifera* (Julien Vallon, 2010)

I.2. Systématique :

Selon Le conte (2008), la classification systématique d'*Apis mellifera* est établie comme suit :

- **Règne** : Animal
- **Sous-règne** : Métazoaires
- **Embranchement** : Arthropodes
- **Sous-embranchement** : Hexapode
- **Classe** : Insecta
- **Ordre** : Hyménoptéra
- **Sous-ordre** : Aculéates
- **Famille** : Apidae
- **Sous-famille** : Apinea
- **Genre** : *Apis*
- **Espèce** : *Apis mellifera* ou *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758)

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

En Algérie : il existe deux races, selon la répartition géographique des abeilles mellifères :

-*Apis mellifera intermissa* « abeille tellienne »: c'est une abeille algérienne appartenant à la race Nord-africaine. L'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien d'où vient la nomination « abeille tellienne »(Buttel Reepen, 1906)

-*Apis mellifera sahariensis* « abeille saharienne »: se trouve dans le Sud-Ouest algérien, les abeilles sont dotées d'une résistance aux conditions climatiques extrêmes notamment des températures allant de -8°C à 50°C(Baldensperger, 1922) .



Figure 02 : *Apis mellifera*(Daniel Prudek, 2009)

I.3. Morphologie de l'abeille :

Le corps de l'abeille est divisé en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Le corps de l'abeille est formé d'une enveloppe de chitine, la cuticule, qui lui donne la rigidité d'une carapace et le rôle d'un squelette externe cependant, au niveau des articulations cette enveloppe de chitine devient membraneuse, mince et souple.

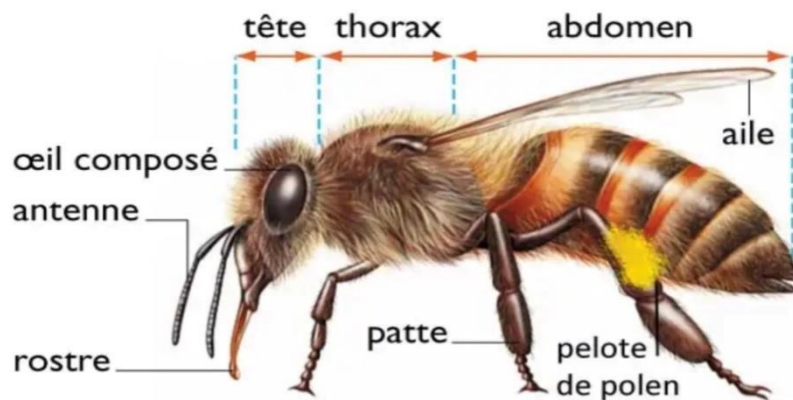


Figure 03 : Morphologie de l'abeille (Michèle et Bernard, 2018)

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

I.3.1. La tête :

En forme de « capsule ovoïde », elle comprend les yeux, les antennes et le système buccal.

- **Les yeux** : y'a deux types des yeux :

Les yeux composés (deux grands yeux noirs composés de milliers de facettes qui leur donnent une vision éloignée à l'extérieur de la ruche) et les ocelles (trois petits yeux positionnés en forme de triangle sur le centre de la tête qui leur permettent de voir dans le noir, donc à l'intérieur de la ruche).

- **Les antennes** : sont constituées d'un flagellum (divisé en 10 segments chez l'ouvrière et chez la reine et en 11 segments chez le faux-bourdon), d'un pédicelle et d'un scape.

Ses fonctions principales sont : l'ingestion et la digestion partielle de la nourriture et la fonction sensitive (la vue, l'odorat et l'ouïe)

- **Système buccale** : comporte une paire de mandibules qui peuvent servir comme ciseaux, pinces, spatules, rabots.

Elle façonne la cire et pétrit la propolis.

Il comporte un proboscis ou langue constitué de la maxille et du labium.

I.3.2 : Le thorax :

Le thorax est divisé en 3 segments, dont le 1^{er} s'appelle le propendium. Chaque segment porte une paire de pattes. Les 2^{ème} et 3^{ème} segments portent chacun une paire d'ailes.

La fonction principale du thorax est donc locomotrice. En effet, c'est là que se trouvent les principaux muscles du vol et de la marche. Le thorax s'occupe également de fonction plus spécialisées comme la collecte du pollen (Biri, 2010 ; Le contre, 2004)

I.3.3 : L'abdomen :

L'abdomen comporte 7 segments visibles, chaque segment comporte une plaque dorsale et une plaque ventrale reliées par des membranes. Ceci permet l'expansion de l'abdomen quand l'abeille est gorgée de miel, de nectar ou d'eau. A l'extrémité de l'abdomen se trouve l'aiguillon qui s'appelle : le dard.

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

I.4. La colonie d'abeille :

La colonie est constituée d'une reine unique, d'ouvrières et de faux bourdons. Chez l'abeille, la vie commune est permanente. Il n'existe aucune période de repos ou d'hibernation au sens propre du mot.

En plein cœur de l'hiver, l'abeille vit dans la ruche, se nourrit, se déplace, crée la chaleur indispensable à la vie du groupe, seulement l'activité est ralenti et ne reprend que sous certaines conditions (Regard, 1988).

L'abeille domestique possède une biologie bien particulière, due à son comportement social et sa coévolution avec les plantes à fleurs. On distingue trois castes d'abeilles :

I.4.1. La reine :

La reine est l'organe féminin de la reproduction dans la colonie. En fait c'est la mère commune à tout ce qui vit dans la ruche (Regard, 1988). Elle est presque deux fois plus longue et 2.8 fois plus lourde qu'une ouvrière (Loiriche, 1979) et se reconnaît par son abdomen allongé qui dépasse largement la pointe des ailes au repos (Segeren et Al., 2004) aussi par des ailes plus courtes, des pattes sans brosses ni corbeilles, une langue plus courte, des glandes cirières et salivaires non fonctionnelles, elle est aussi munie d'un dard qu'elle n'utilise que très rarement ou pour détruire les autres reines (Medori et Colin, 1982).

L'unique alimentation de la larve destinée à devenir des larves reine est la gelée royale déposée en grande quantité dans la cellule royale (Layens et Bonnier, 1987). Sa durée de vie est de 5 ans.

I.4.2. L'ouvrière :

C'est une femelle atrophiée, ou encore ayant évolué différemment (Regard, 1988), il s'agit d'une femelle incapable de se reproduire (Romano et Tecines, 2009). Les ouvrières sont les plus petites et les plus nombreuses de la colonie.

À l'entrée de la ruche les abeilles se livrent à différents travaux. Les unes veillent à l'entrée de la ruche, ce sont des gardiennes ; d'autres, souvent disposées en files, agitent leurs ailes pour produire un courant d'air dans la ruche, ce sont des ventileuses, d'autres encore transportent hors de la ruche tous les débris inutiles, ce sont les nettoyeuses. Enfin, les plus nombreuses par une belle journée sortent de la ruche en s'envolant ou y rentrent activement, ce sont les butineuses.

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

Au printemps et en été, pendant la période de pleine activité de la colonie la durée de vie d'une ouvrière est de 27 jours. En hiver, à la faveur d'une activité réduite, celle-ci peut attendre 5 à 6 mois.

I.4.3. Les faux bourdons (abeilles males) :

On peut remarquer à l'entrée de la ruche des abeilles plus grosses (notamment les yeux), qui n'ont pas la même activité; ce sont les faux bourdons ou abeilles males; les faux bourdons diffèrent surtout des ouvrières par leurs taille plus grande, par leur bourdonnement différent, par leurs pattes de derrière ne creusées en cuiller comme celles des ouvrières et ils ne possèdent pas de dard (donc pas de pique) et ne peuvent se nourrir seul : leur trompe est trop courte et se sont les ouvrières qui les alimentent. Leur seul rôle connu est la fécondation de la reine, au cours de son « vol nuptial ».

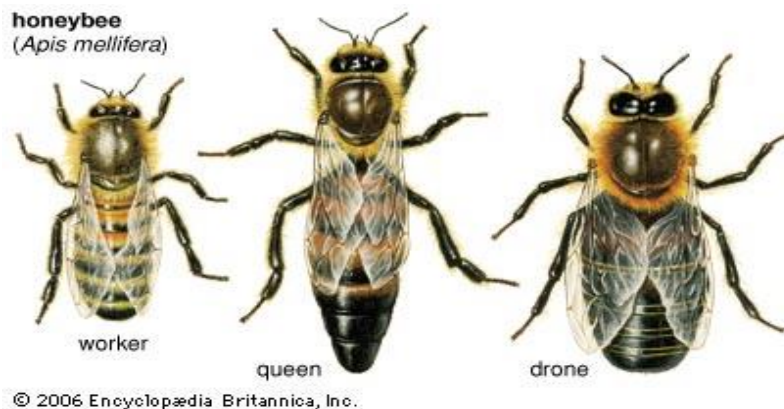


Figure 04 : Les acteurs de la ruche (Encyclopædia Britannica, 2006).

I.5. Cycle de vie de l'abeille :

Les abeilles sont dites insectes holométaboles ou à métamorphose complète. Elles sont complètement différentes à l'état larvaire et à l'état adulte (Biri.2010). Au cours de son développement, l'abeille passe par une série de phases : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. La différence entre ces castes se fait sur la durée de chaque étape (Prost.2005 et Von Frisch.2011). Au cours du vol nuptial, se produit l'accouplement, la reine fécondée retourne dans la ruche, s'installe au centre d'un rayon et commence à déposer un œuf dans chaque alvéole en suivant un mouvement circulaire du centre vers la périphérie.

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

Après 3 jours d'incubation durant lesquels l'embryon se développe, une petite larve éclot de l'œuf. Pendant ces 3 jours les larves sont nourries avec de la bouillie ou gelée royale par les ouvrières nourrices (Biri, 2011). Dès le 6^{ème} ou 7^{ème} jours, les larves parviennent à maturé et cessent de manger.

A l'intérieur de cette cellule operculée, la larve emprisonne son corps de filament séreux et file un cocon très fin à l'intérieur duquel elle se transforme en nymphe (la larve avant sa transformation en nymphe, subit un certain nombre de mues).

Tableau 01 : Les durées de développement des trois castes (Gilles, 2010)

Durée	Reine	Ouvrière	Male
Cycle	16 jours	21 jours	24 jours
Stade de l'œuf	3 jours	3 jours	3 jours
Stade larvaire	8 jours	10 jours	10 jours
Stade prénymphe	2 jours	2 jours	3 jours
Stade nymphale	4 jours	8 jours	11 jours

I.6. Produits de la ruche :

I.6.1. Le miel :

Le miel est une substance sucrée naturelle élaborée par les abeilles domestiques à partir de nectar ou du miellat. Elles l'entreposent dans la ruche et s'en nourrissent tout au long de l'année, en particulier lors de la période climatique défavorable, il est aussi consommé par d'autres espèces animales, dont l'espèce humaine qui organise sa production par l'élevage des abeilles à miel.

Le miel offre une alimentation très bénéfique et riche en activité antioxydant, anti-inflammatoire, antifongique, antibactérienne et action cicatrisante. Le miel suffisamment riche en sucre ne fermentera pas, l'operculation conservera parfaitement le miel protégé par le bouchon de cire (Darrigol, 2017).

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

I.6.2. Cire d'abeille :

La cire d'abeille est une matière molle, jaunâtre et fusible produite par les glandes cirières qui se situent sur la face ventrale de l'abdomen (Hacene et Ghania, 2017) des ouvrières âgées de 2 semaines (Darrigol, 2017). Elle est fabriquée à partir du miel par la réduction chimique des sucres et en utilisant les protéines du pollen (Hacene et Ghania, 2017).

L'abeille utilise la cire pour construire des cellules hexagonales qui contiennent selon les besoins de la ruche, le couvain, le miel, le pollen. Cette substance est inoxydable et insoluble dans l'eau (Straub, 2007).

I.6.3. La gelée royale :

La gelée royale est la substance la plus élaborée de la ruche et la clé du développement de la colonie, elle est sécrétée par les glandes hypo-pharyngiennes et mandibulaires des jeunes nourrices âgées de 5 à 15 jours.

C'est une substance blanchâtre à consistance gélatineuse, acide et légèrement sucrée, elle constitue la nourriture exclusive de toutes les larves de 0 à 3 jours et de la reine pendant toute la durée de son existence.

I.6.4. Le pollen :

Le pollen parfois appelé « pain d'abeille » est l'aliment fécondant mâle d'une fleur qui se trouve sur les anthères des étamines (Straub, 2007). L'abeille travaille les anthères de la fleur avec ses parties buccales pour en faire tomber les grains de pollen. Il sert de nourriture aux larves. Plus les abeilles auront accès à une gamme de fleurs variée, plus le pollen sera riche et plus la ruche se développera rapidement.

I.6.5. La propolis :

La propolis est la substance qui se trouve à l'entrée de la ruche et qui protège la colonie. Elle est fabriquée à partir des résines végétales sécrétées par les bourgeons et l'écorce de certains arbres : saules, peuplier, frênes,.....

L'homme l'utilise pour le traitement des maladies internes infectieuses et infantiles, mycose, grippe, bronchite, ulcère de l'estomac,....(Darrigol, 2017).

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

I.6.6. Le venin :

Le venin ayant principalement une action anti-inflammatoire et antalgique propre à soulager l'arthrose et autres pathologies rhumatismales. Il est aussi utilisé par l'industrie chimique. Seuls les individus femelles sont pourvus d'un appareil vulnérant et synthétisent donc du venin, une poche spécifique leur permet de stocker jusqu'à 150ug pour une ouvrière mature et jusqu'à 700 ug pour une reine. Le venin est un liquide incolore à forte odeur amère, qui rend les abeilles agressives.

I.7. Les maladies et les ennemies d'abeille :

Il existe trois catégories de maladie :

- ❖ Celles atteignant le couvain : Loque américaine, Loque européenne, le couvain sacciforme.
- ❖ Celles touchant les abeilles adultes : Nosébose, Acariose, Maladie noire.
- ❖ Les maladies du couvain et de l'abeille : Varroase.

CHAPITRE I : Généralités sur l'abeille

Tableau 2 : Les maladies d'abeilles

Les maladies	Etiologie	Symptômes
La loque américaine	Maladie bactérienne causée par <i>Paenicillus Larvea</i> .	<ul style="list-style-type: none"> -La colonie s'affaiblie et elle a un aspect tacheté. -Odeur caractéristique peut se développer. -Le couvain est visqueux ou gluant. -Les cadres de couvain operculé revêtent une apparence de mosaïque : la disposition du couvain est irrégulière et les alvéoles frappés par la maladie sont entourées d'alvéoles vides ou des larves plus jeunes et saines.
La loque européenne	Causée par la bactérie <i>Melissacoccus plutonius</i> .	<ul style="list-style-type: none"> -Odeur nauséabonde. -Ecailles sur le plancher d'envol. -Couvain en mosaïque. -Ecailles très petites qui n'adhèrent pas à l'alvéole. -Larves affaissées.
Le couvain sacciforme	Due à un virus SBV	<ul style="list-style-type: none"> -Couvain apparait en mosaïque avec une mortalité larvaire. -Tête recourbée vers le ventre. -Larve desséchée en écailles incurvées nonadhérentes dans les alvéoles. -Couleur brun clair. -Pas d'odeur particulière, diminution passagère de la population.
La nosérose	Causée par un protozoaire <i>Noséma apis</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Agitation des abeilles en hiver. -Gonflement de l'abdomen et un manque de dynamique au printemps et lors des étés froids humides. -Les abeilles rompent devant la ruche, la disparition d'abeille adulte. -La ruche est souillée par des taches de diarrhée. -Abeilles grim pant aux brins d'herbe, ne pouvant plus voler, abeilles trainantes.
Acariose	Maladie parasitaire due à un acarien <i>Acarapis woodi</i>	<ul style="list-style-type: none"> -La dépopulation de la ruche. -Un abdomen gonflé. -Les abeilles mortes en nombre devant la ruche, rassemblées en petits groupe. -Des ailes décrochées et écartées en forme de moulin.
La maladie noire (CPV)	Maladie virale causée par CBPV (Chronique Bee Paralysis Virus)	<ul style="list-style-type: none"> -Paralysie décrite par Bailey en 1976, avec corps et ailes tremblantes. -Perte de pilosité, une coloration noire et brillante chez certaines abeilles (d'où le nom de maladie noire et abeille noire). -Agitation anormale et particulière au trou de vol : abeilles saines repoussant les malades à l'extérieur (comportement dit de houspillage)

Chapitre II :

Généralité sur la

varroase

Chapitre II : Généralités sur la varroase

II. Généralités et Historique :

La varroase aussi appelée varroatose est une maladie parasitaire de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Le varroa a été récolté pour la première fois par l'entomologiste Edward Jacobson sur les abeilles de l'espèce *Apis cerana* de l'île de Java en 1904.

Le passage de Varroa de son hôte original *Apis cerana* à son nouvel hôte *Apis mellifera* a sans doute eu lieu au cours des années 1940 ou 1950 (Grobov, 1976). La première observation de varroa dans le couvain d'*Apis mellifera* aurait eu lieu en Corée dans les années 1950 (Topolska, 2001). En France la première observation de colonies d'abeilles infestées par varroa a été faite en 1982 (Colin et Al, 1983). En Tunisie, la varroase a été découverte en 1976. L'Algérie est déclarée infester en 1981. Récemment, en 2010, le varroa a fait son apparition au Madagascar.

A travers le monde, ce n'est qu'en 1966 que l'on déclare officiellement le danger et les dommages potentiels, pour l'apiculture, provoqués par l'extension du parasite. La répartition du varroa dans les ruches est dès lors devenue, au gré des échanges internationaux d'abeilles (Colonies, reines), peu à peu mondiale.

En 2000, Anderson et Truemann, dissocie l'acarien initialement *Varroa jacobsoni* en deux espèces distinctes, le nom de l'espèce qui regroupe les acariens infestants l'abeille domestique *Apis mellifera* est désormais « *Varroa destructor* ». De nos jours, de part le monde, peu de territoire sont épargnés par l'infestation des colonies d'*Apis mellifera*.



Wilfert L et al. Science, 2016

Figure 05 : Propagation de *Varroa destructor* (Wilfert et al., 2016)

Chapitre II : Généralités sur la varroase

II.1. Agent causal :

L'agent causal de la maladie est un ectoparasite *Varroa Jacobsoni* ou *Varroa Destructor*. C'est un arthropode de la classe des Arachnides, de l'ordre des Acariens, voisin des Dermanyssidés. Son appareil buccal est de type piqueur-suceur. Les pattes sont munies de volumineuses ventouse.

Le couvain du faux bourdon est plus sensible à l'infestation par le varroa. L'infestation est à son minimum en hiver. Elle augmente au cours de la saison et atteint son paroxysme à l'automne (1904, Jacobson).

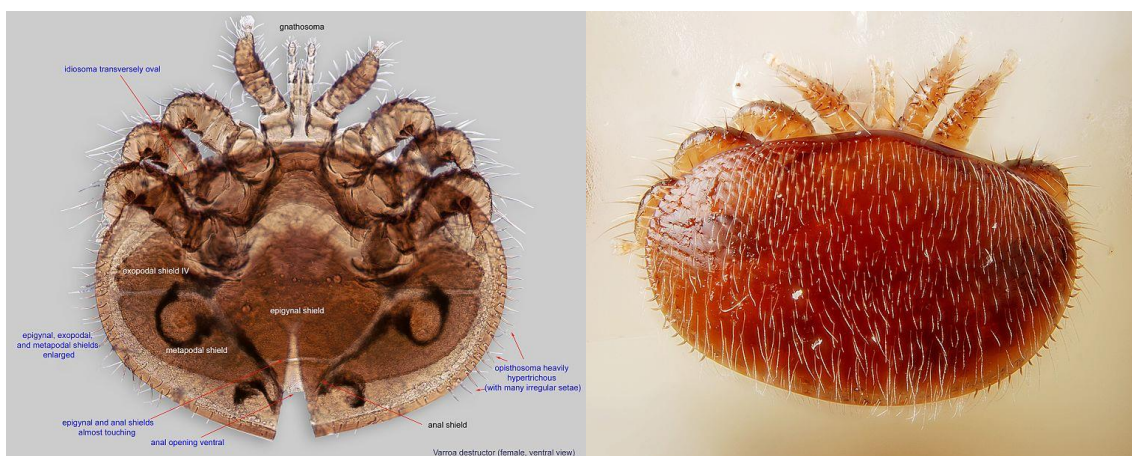


Figure 06 : *Varroa destructor* (Pavel Klimov, 2017)

II.2. L'hôte réceptif :

L'hôte réceptif de *Varroa* est l'abeille. Quelques expériences tentées pour fixer le *Varroa* sur des guêpes, des bourdons ou d'autres espèces, ont montrés que le *Varroa* ne reste pas sur ces hôtes. Il n'a, par ailleurs, jamais été découvert de *Varroa* dans les nids d'un quelconque autre hyménoptère ou autres insectes (Grobov, 1977).

Chapitre II : Généralités sur la varroase

II.3. La systématique du Varroa :Selon Andreson et Truman (2000) :

- **Règne** : Animal
- **Sous-règne** : Métazoaires
- **Embranchement** : Arthropodes
- **Sous-embranchement** : Chélicérates
- **Classe** : Arachnides
- **Ordre** : Gamazidas
- **Sous-ordre** : Mésostigmates
- **Famille** :Varroadaes
- **Sous-famille** : Varroanas
- **Genre** : Varroa
- **Espèce** : *Varroa Jacobsoni*

Le genre Varroa est composé de quatre espèces :

Varroa jacobsoni (décrite par Oudemans en 1904), Varroa underwoodi (décrite par Delfinado-Baker et Aggarwale en 1987), Varroa Rindereri (décrite par De Guzman et Delfinado-Baker en 1995) et Varroa destructor (décrite par Anderson et Trueman en 2000). Seul Varroa destructor est présent en Europe, les autres espèces étant parasites d'abeilles asiatiques (Treilles, 2002).

II.4. Morphologie du varroa :

Varroa jacobsoni est une espèce d'acarien à dimorphisme sexuelle très marqué. Pour sa forme général, le varroa ressemble à un minuscule crabe « tourteau » dont la taille serait de l'ordre de millimètre.

II.4.1. Varroa femelle :

Est un acarien mesure environ 1.1mm de long sur 1.6mm de large, sa coloration varie du marron clair aumarron foncé (couleur brun rougeâtre), sa forme est elliptique avec une légère concavité, Sa cuticule durcie par une protéine, la sclérotine, est divisées en plaques appelées sclérites. Souvent couverts de poils, ces sclérites sont unis par un tégument souple nommé membrane interscutellaire, qui permet l'articulation des sclérites entre eux (Fernandez et Coineau, 2002).Toutes les parties de son corps sont recouvertes de soies plus ou moins longues

Chapitre II : Généralités sur la varroase

ou ondulées. Comme tout acarien, le parasite est divisé en deux parties : l'idiosoma représente la quasi-totalité du corps et le gnathosome correspond à l'appareil buccal. (Treillers, 2002).

*L'**idiosoma** est formé de dix sclérites et porte ventralement quatre paires de pattes courtes et robustes, ces pattes sont composés de 7 articles : coxa, trochanter, fémur, gèneual, tibia, tarse, apotèle.

*le **gnathosome** se trouve en avant du corps et fait légèrement saillie. Les pédipalpes mobiles recouverts de poils servent d'organes du toucher, sous ces pédipalpes, l'orifice gnathosomale s'ouvre entre les chélicères qui ont un double rôle sensitif et mécanique dans la perforation de la cuticule de l'abeille. Un pharynx musculueux permet la succion de l'hémolymphe de l'hôte après la pique.



Figure 07: Varroa adulte femelle (Gilles San Martin)

II.4.2. Varroa male :

Le male de varroa jacobsoni a seulement un rôle de reproduction. Il est grossièrement sphérique et de couleur blanchâtre, il est plus petit que la femelle environ 0.8mm de diamètre, son appareil buccal n'est pas adapté à la succion de l'hémolymphe, les chélicères permettent le transport des spermatophores dans les voies génitales de la femelle. Les males ont une courte vie ; ils ne sont pas en mesure de survivre à l'extérieur du couvain operculé. Le varroa male est incapable de percer la cuticule de son hôte.

II.4.3. Les immatures :

Chez l'acarien, l'ontogénèse comprend six stades : Prélarve, larve, protonympe, deutonympe, tritonympe et l'adulte.

-**Les œufs** : les œufs pondus par la femelle de varroa sont blancs. Ils présentent une consistance élastique et une forme ovoïde et mesurent environ 300µm de long et 230µm de large (Wendling, 2012).

Chapitre II : Généralités sur la varroase

-**La larve** : c'est une larve calyptostatique, elle ne se nourrit pas et immobile et de ce fait elle est incapable d'éclore. La larve reste dans l'enveloppe de l'œuf et débute son développement 24 heures après sa ponte. Son corps est piriforme et mesure environ 0.5mm de large pour 0.7mm de long. On distingue 3 paires de pattes et les chélicères. A ce stade elle est inoffensive pour son hôte.

-**La protonympe** : mobile, mesure 0.7mm et de couleur blanchâtre. Le passage de la larve à la protonympe est appelé pupaison : l'hypoderme de la larve se délamine et sa couche externe reste solidaire de la cuticule, le tout formant une carapace dans laquelle la protonympe se forme.

-**La deutonympe** : les deutonymphes ont à peu près la forme et la taille de l'adulte, la couleur varie légèrement et devient jaunâtre, le corps de la femelle devient ellipsoïde tandis que celui du mâle reste piriforme. Le nombre de soies augmente et le gnathosome devient identique à l'adulte.



Figure 08 : Protonympe, deutonympe, mâle adulte (Giles San Martin, 2012)

II.5. Cycle de développement :

On distingue 2 phases dans le cycle biologique de varroa : une phase phorétique, en dehors du couvain, pendant laquelle *Varroa Jacobsoni* vit sur des abeilles adultes et une phase de reproduction qui se passe dans le couvain operculé des ouvrières et des faux-bourdons. Une femelle peut faire plusieurs cycles dans sa vie, mais n'est fécondée qu'une seule fois.

(Wendling, 2014).

Le développement jusqu'au stade adulte se déroule exclusivement dans du couvain operculé et se réalise en 154 heures pour le mâle et 134 heures pour la femelle.

Chapitre II : Généralités sur la varroase

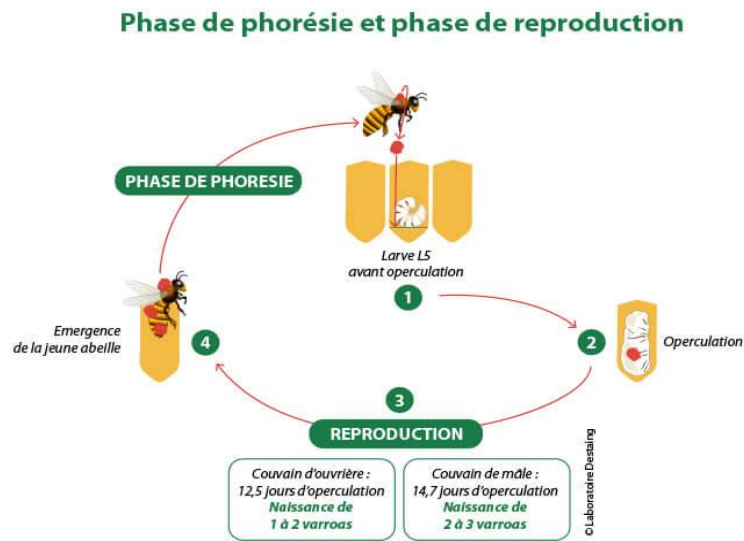


Figure 09 : Phase de phorésie et phase de reproduction. (Anonyme, 2010)

II.5.1 La phase phorétique :

A l'émergence de la jeune abeille, la femelle varroa sort de la cellule de couvain pour se fixer sur une ouvrière. Elle se dissimule sous leurs écailles dorsales (tergites) et ventrales (sternites) de l'abeille. Il est donc difficile de les observer à l'oeil nu. Elle ponctionne régulièrement de l'hémolymphe pour se nourrir. C'est pendant la phase de phorésie qu'elle peut passer d'une abeille à l'autre voire même d'une ruche à l'autre.

Varroa préfère se fixer sur des nourrices, qui sont les abeilles qui s'occupent du couvain. Cette attractivité pour les nourrices serait due à l'odeur spécifique dégagée par les abeilles nourrices. (Xie, 2016)

La phase phorétique est de durée variable, elle peut parfois être très courte. La première phase phorétique de la jeune femelle varroa est généralement plus longue, car elle permet la maturation de l'appareil reproducteur. En hiver, en l'absence de couvain, tous les Varroa se trouvent sur les abeilles adultes. La phase phorétique peut alors durer plusieurs mois.

Chapitre II : Généralités sur la varroase

II.5.2 La phase reproduction :

La reproduction a lieu dans des cellules de couvain operculées. La phase operculée dans le développement de la future abeille est de durée fixe : 12 jours dans le couvain d'ouvrières, et 15 jours dans le couvain mâle. *Varroa Jacobsoni* dispose donc d'un temps très limité pour engendrer une descendance capable de se reproduire.

- Les principales étapes de cycle de reproduction du varroa :

1- La pose de l'œuf par la reine

2- 8 jours après la pose de l'œuf, une femelle fondatrice de varroa entre 15h avant l'operculation de la cellule par détection de signaux olfactifs.

3- 9 jours après la pose de l'œuf, la cellule est operculée, le varroa commence à se nourrir de la lymphe.

4- 10-11 jours après la pose de l'œuf, la fondatrice pond un œuf toutes les 30h dans la cellule (d'abord un mâle puis une femelle).

5- 12-20 jours après la pose de l'œuf, les jeunes femelles varroa sont matures sexuellement après 5 à 6 jours et donc fécondées par le varroa mâle.

6- 21 jours après la pose de l'œuf, la jeune abeille sort de la cellule parasitée par les femelles varroa. Les mâles et les immatures ne sont pas viables et sont éliminés lors du nettoyage. (Le conte, Ellis, Rites, 2010).

II.6. La nutrition :

Tous les stades de varroa se nourrissent exclusivement à partir de l'hémolymphe de leur hôte. Seules les femelles sont capables de survivre sur les abeilles adultes en se nourrissant entre les sternites de leurs hôtes. Les autres formes, mâles et immatures, vivent dans le couvain.

II.7. Moyens de lutte contre *Varroa Jacobsoni* :

II.7.1. Lutte par la réalisation de traitements acaricides :

Afin de limiter la charge parasitaire en dessous d'un seuil compatible avec un développement harmonieux des colonies (moins de 50 parasites par colonie en fin de saison), cinq médicaments disposant d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) pour la varroase de l'abeille :

Chapitre II : Généralités sur la varroase

-**L'Apistan** ; principe actif : tau-fluvalinate, les caractéristiques chimiques de cette molécule font qu'elle s'accumule dans la cire, accumulation qui de plus perdure dans le temps. Des résidus peuvent également être retrouvés dans le miel (Lodesani et *al.*, 1992 ; Lodesani et *al.*, 2008 ; Nguyen et *al.*, 2009 ; Wallner, 1999).

-**L'Apivar** ; principe actif : amitrazé, seuls les acariens phorétiques au moment du traitement seront soumis à l'action acaricide, les acariens en phase de reproduction restant protégés à l'intérieur des alvéoles operculées (Faucon et *al.*, 2007). D'autre part, un contact prolongé avec des doses non maîtrisées augmente les risques de résistance.

-**L'Apiguard** ; principe actif : thymol, C'est une molécule retrouvée naturellement dans le miel (Wallner, 1999). Les résidus retrouvés dans le miel le sont toutefois à des doses très faibles et ne présentent aucun danger pour la consommation humaine (Bogdanov, 2006 ; Emsen et Dodologlu, 2009).

-**Le Thymovar** ; principe actif : thymol.

-**L'Apilife-Var** ; principe actif : (thymol (76 %), eucalyptol (16,4 %), camphre (3,8 %), menthol (3,8 %)), seul le thymol semble avoir une activité acaricide. En effet, le camphre ne possède pas d'activité acaricide et l'eucalyptol et le menthol ne sont pas présents en concentration suffisante pour exprimer leurs propriétés acaricides.

II.7.2. Application des acides organiques :

-**Acide oxalique** : Cet acide est utilisé dans une solution sucrée par égouttement entre les cadres d'abeilles, par sublimation dans la ruche ou par pulvérisation d'une solution aqueuse directement sur les abeilles. Les travaux scientifiques ont démontré une efficacité au-dessus de 95% pour ces trois méthodes en absence de couvain operculé dans la ruche. En présence de couvain l'efficacité est inférieure à 50% (Giovenazzo, 2004).

-**Acides formique** : Cet acide s'évapore facilement. L'acide est soit imbibée dans un matériel absorbant et s'évapore par une surface d'évaporation réglable ou l'acide est contenu dans un réservoir et s'évapore par une mèche. Le succès du traitement à l'acide formique est très variable. Il dépend en premier lieu de la température extérieure. Certaines études ont montré que l'on peut obtenir un succès de traitement de plus de 90% en appliquant deux traitements de longue durée (Giovenazzo, 2004)

Chapitre II : Généralités sur la varroase

II.7.3. Lutte physique : (Thermothérapie)

Plusieurs expériences ont été menées sur l'utilisation de la chaleur contre le varroa et l'acarien de l'abeille. Les acariens sont très sensibles à la chaleur. Avec la thermothérapie il s'agit donc de trouver la température et la durée de traitement qui vont permettre de réduire le nombre d'acariens sans tuer les abeilles. Une température supérieure à 36 °C met en péril la reproduction du varroa.

II.7.4. Plantes répulsives :

Des apiculteurs biologiques allemands considèrent que la présence à proximité des ruches de certaines plantes à forte odeur explique que leurs ruches soient exemptes de Varroa. Les plantes en question seraient l'aile et la fougère-male (*Dryopteris filix-mas*), cette dernière étant reconnue pour ses propriétés acarifuges.

Chapitre III :
Présentation de
l'espèce végétale
Citrus Limonum

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

III. Généralités sur les Huiles Essentielles

III .1. Historiques et origines des HE :

Les huiles essentielles sont utilisées depuis des millénaires dans le monde du fait de leurs puissantes propriétés thérapeutiques, bien qu'un peu oubliées au Moyen âge. C'est l'arrivée des Arabes qui va permettre un renouveau de la médecine par les plantes. Les huiles essentielles retrouvent alors une place de choix.

Le pouvoir antiseptique des huiles essentielles a été découvert suite à de nombreuses expérimentations par des chercheurs du début du XXème siècle (Chamberland, Cadéac, Martindale). Elles servaient avant dans l'alimentation et la parfumerie.

Aujourd'hui, des professionnels de la santé (médecins : Valnet, Duraffourd, Lapraz, d'Hervincourt, Belaiche - chercheurs de haut niveau : P. Franchomme - pharmaciens : D. Baudoux) ont contribué à sa notoriété réputation prouvant leur efficacité ainsi que leur richesse(Wikipédia, 2010).

III .2. Définition :

Les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huile volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en parties cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité (Durville, 1930 1893).

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras, contrairement à ce que pourrait suggérer leur appellation, car elles s'évaporent. Leurs densités sont inférieures à « 1 » et elles ne sont donc pas solubles dans l'eau sauf les huiles essentielles de cannelle, girofle, saffran et ail. En revanche, elles se mélangent à l'alcool, à n'importe quel corps gras et à certains solvants. Généralement de couleur jaune, certaines peuvent toutefois se distinguer : l'HE de camomille allemande est bleue, celle de sarriette est rouge, celle de bergamote est verte pâle.

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

III .3. Localisation des huiles essentielles dans la plantes :

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules. Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (Bergamotier, rose, ...), les sommités fleuries (tagète, lavande, menthe, ...), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus, ..), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma, ...), les fruits (poivres, ...), le bois (bois de rose, santal, camphrier, ...), ou les grains (muscade, ambrette, ...) (Mebarki, 2010).

III .4. Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles :

Il existe diverses méthodes pour extraire les huiles essentielles, celle la plus utilisée étant la distillation par entrainement à la vapeur. L'extraction des huiles essentielles peut être réalisée à partir des fleurs, des feuilles, des racines ou encore des graines de la plante.

❖ La distillation par entrainement à la vapeur :

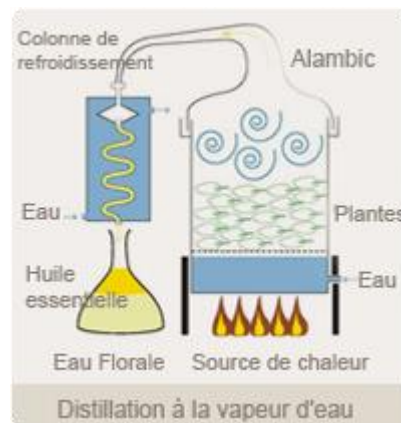


Figure 10 : Distillation à la vapeur d'eau. (Florame, 2006)

C'est une technique qui consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentin refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentin, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier.

L'ensemble du dispositif utilisé pour l'hydro distillation est l'alambic :

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

Ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distiller. Les plantes sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentielle.

❖ L'extraction par pression à froid ou expression :

Cette technique s'applique aux huiles citronnées et agrumes (comme le citron, l'orange, la mandarine). Les écorces ou les zestes sont pressés par une machine ou à la main pour en recueillir les huiles. L'extrait alors recueilli se nomme « essence aromatique » et non « huile essentielle » car il n'y a aucune modification chimique.

❖ L'extraction au CO₂ supercritique :

Très moderne, très coûteuse, cette méthode consiste à faire passer un courant de CO₂ à haute pression qui fait éclater les poches à essence et entraîne les substances aromatiques. La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

❖ L'extraction par solvant :

Cette méthode est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. Les plantes et le solvant sont placés dans un récipient et chauffés pour favoriser l'extraction des huiles par le solvant. La mixture ainsi obtenue est ensuite filtrée et devient ce que l'on appelle un « concret », qui est alors mélangé à de l'alcool, refroidi et filtré. Après évaporation de l'alcool, reste l'huile très parfumée, appelée « absolu ».

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

❖ Extraction assistée par Micro-ondes :

Les rayonnements micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 30 GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm. Sur le spectre électromagnétique, elles sont situées entre les radiofréquences et les infrarouges (Kingston et Haswell, 1997).

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait (Abderrahim El haib, 2011).

III .2. La toxicité des huiles essentielles :

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles sont utilisées depuis la nuit des temps dans des applications aussi multiples que variées. Cela ne signifie pas pour autant qu'elles sont inoffensives ou qu'une automédication sans mesure ne présente aucun risque. Il est donc capital de connaître la toxicité de ces substances très actives pour bénéficier pleinement de leurs superbes propriétés et non pour subir les effets secondaires ou toxiques liés à un mauvais usage.

L'avenir à court terme apportera un éclairage important sur la cytotoxicité et la génotoxicité des huiles essentielles. Il est cependant capital d'intégrer la notion de la dualité "Efficacité - Toxicité". En effet, toute substance thérapeutique ment active est potentiellement toxique. Tout dépendra de la dose unitaire, journalière, de la voie d'administration, de l'état du patient... N'oublions pas qu'un produit toxique intéressera sûrement la recherche fondamentale pour la mise en évidence et l'isolement de molécules toxiques qui dans certaines pathologies, apporteront des solutions appréciables. C'est le cas du taxol isolé de l'if (*Taxusbaccata*) dont l'activité anti tumorale traite les cancers mammaires et utérins avec de bons résultats. (Pierron, 2014).

III.3. Historique sur l'espèce végétale *citrus limonum* :

D'après Loussert (1989), le mot « agrumes » serait d'origine italienne, désignant les fruits comestibles et par extension les arbres qui les portent appartenant au genre « Citrus ». Les fruits ont un zeste (peau) riche en glandes à huiles essentielles, et une pulpe organisée en quartiers comprenant des pépins

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

Les principaux agrumes cultivés pour la production de fruit sont : les orangers, les mandariniers, les clémentiniers, les pomelos, les citronniers.

Le citronnier (*Citrus limonum* en latin) est un arbre à feuilles vert foncé assez rigides, et à fleurs roses ou blanches. Il fait partie de la famille des rutacées. Le citronnier est un arbuste mesurant entre 5 et 10 m de haut, cultivé dans les régions à climat méditerranéen. Il est capable de fructifier plusieurs fois par an et de façon abondante (Loussert, 1989).

Il est particulièrement répandue en Italie, en Espagne mais aussi à chypre, enCalifornie....

Le citron est riche en sels minéraux (teneur élevé en calcium 25mg/100g), en vitamine C (52mg/100g) et P, le jus contient essentiellement trois acides : malique, ascorbique, citrique. Les principaux composés de l'HE de citron : limonène, pinène, terpinene, gèranial.



Figure 11 : L'Huile de citron (Anonyme,2010)

III .4. Classification systématique :(Guignard, 2011)

- Règne : végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicotylédones
- Ordre : Rurales
- Sous-classe :Rosidées
- Famille : *Rutaceae*
- Genres : *Poncirus, Fortunella, Citrus*(sexuellement compatibles entre eux)

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

- Le genre *Fortunella* : petits fruits qui se mangent avec la peau (Kumquat)
- Fortunellajaponica* (T) Kumquat rond.
- Fortunellamagarita* (L) Kumquat ovale.
- Le genre *Poncirus* : ils sont utilisés comme porte-greffes (fruits non comestibles)
- Poncistrifolia* (L)
- Le genre *Citrus* Linné : toutes les autres espèces d'agrumes (16 espèces dont chacune contient plusieurs variétés ou cultivars).
- Citrus aurantium* (L), bigarade
- Citrus sinensis* (L), oranger doux
- Citrus reticulata* (L), mandarine
- Citrus clementina* (L), clémentine
- Citrus medica* (L), cédratier
- Citrus paradisis* (racf), pamplemousse
- Citrus limonum* (L), citronnier

III .5. L'utilisation des huiles essentielles :

L'huile essentielle sert à parfumer les produits d'entretien, les désodorisants, les lessives, les savons liquides, les déodorants et les gels douche dans l'industrie alimentaire, la citronnelle est employée pour aromatiser les pâtisseries et les sucreries ainsi que la limonade, c'est également un agent répulsif contre les insectes, notamment les moustiques, elle est en outre utilisée pour l'extraction du citral qui sert notamment pour l'hémisynthèse de la vitamine A et d'ionones (Hansel et *al.*, 1998).

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

Chapitre III : Présentation de l'espèce végétale *Citrus Limonum*

Contre les champignons, les alcools et les lactones sesquiterpéniques sont d'excellents inhibiteurs, ils peuvent émaner de la cannelle, clou de girofle, eucalyptus citronné, géranium, rosat, niaouli, *plamarosa*, *ravensare*, tagète, romarin-cinéole et calophyllum. (Wilson et *al.*, 2007) dévoileront l'efficacité de 49 huiles essentielles sur *Botrytis cinerea*.

Contre les bactéries (Defoe et *al.*, 2003)avaient étudié la composition chimique de l'huile essentielle *Thymus spinulosus* et réalisé des tests biologiques sur son activité antibactérienne contre des souches de bactérie, les résultats ont montré que les monoterpènes (thymol) a une propriété inhibitrice de croissance.

Partie Expérimentale

CHAPITRE I :

Matériels et

Méthodes

1.Objectif du travail :

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet acaricide de l'huile essentielle du citronnier (*Citrus limonum*) sur le *Varroa jacobsoni* parasite d'*Apis mellifera intermissa*, par l'estimation de la mortalité provoqué par la dose (0.1%).

2.Présentation de la zone d'étude :

2.1.Critères de choix du site :

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

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

Notre étude a été réalisée au niveau de la station expérimentale du département des biotechnologies, Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Université Blida I.

Le rucher comporte 10 ruches installées dans un verger constitué d'orangers entouré par les arbres d'eucalyptus et de casuarina.

2.2. Les conditions de travail :

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

3.Matériel biologique :

3.1.Matériel animal :

-**Les abeilles** :Nous avons travaillé sur plusieurs colonies d'abeille de l'espèce *Apis mellifera intermissa*.

Cette espèce tellienne est caractériser par une :

- Présence de nervosité extrême lors des manipulations.
- Une forte vitalité et fécondité.
- Tendance extrême à l'essaimage.
- Forte accessibilité aux maladies du couvain(Adam ;1964).



.**Figure 12** : Présentation de la colonie d'*Apis mellifera intermissa*

-**Le parasite** : l'acarien ectoparasite de l'abeille *Apis mellifera* est le *Varroa jacobsoni* qui provoque la varroase.



Figure 13 : Abeilles infectées par le varroa

3.2. Matériel végétal :

-**L'huile essentielle** : l'huile essentielle extraite de la plante *citrus limon* aux laboratoires 300,302, département des Sciences Alimentaires, Faculté SNV, Université de Blida I. Une quantité de 10kg de citrons, prélevés d'un arbre du jardin.

4. Matériel non biologique :

4.1. Matériel apicoles :

-**les ruches** : 10 ruches de type Anshtroum alignées à côté du verger d'agrumes du département des biotechnologies. Les ruches sont dirigées vers l'exposition Nord.



Figure 14 : Présentation d'une ruche.

-Equipements apicoles :

-L'enfumoir: L'utilisation de l'enfumoir sert à produire de la fumée pour réduire l'agressivité des abeilles et appliqué les traitements à base de fumée des plantes choisies.

-Lève cadre: sert à décoller les nourrisseurs et les cadres propolisés.

-La brosse: pour débarrasser un cadre de toutes les abeilles.

-Combinaison: pour éviter les piqûres des abeilles.

-Matériel utilisé pour le diagnostic :

-Les langes: qui sont des plaques de longueur 35cm et de largeur 25cm, inférieure à celle du plancher de la ruche, utilisé pour le piégeage du varroa.

-La graisse: elle est nécessaire pour enduire les langes sur lesquels tombent et s'engluent les parasites.

-Papier filtre: sur lequel on met de l'huile essentielle diluée.

-Des seringues.

-Matériel de laboratoire :

- Une balance.
- Un ballon de 2000ml
- L'eau distillée
- Un Becher 500ml
- Erlenmeyer
- Des micros tubesependorf
- Aluminium
- Vinaigre d'alcool
- Seringue
- Vaseline
- Klévenger (d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'HE)

5.Méthode :

5.1.Méthode d'extraction :

-préparation de la matière première :

Laver soigneusement le citron ; afin d'éliminer au mieux les produits de conservation généralement pulvérisés sur les agrumes.

Les éplucher en évitant de prendre la partie interne blanche de la peau.

-hydro distillation :

Introduire les morceaux dans le ballon de 2000 ml et le remplir à moitié d'eau distillée, puis faire porter à l'ébullition pendant 2 à 3 heures dans l'hydro-distillateur. Sous l'action de la chaleur, les cellules sécrétrices de l'huile essentielle éclatent et libèrent des composés organiques volatils. Les vapeurs hétérogènes (eau+molécules aromatiques) sont condensées en passant dans un serpentin du réfrigérant et redeviennent liquide et recueilli dans une ampoule à décanter à robinet (KHADRI S., 2009).

On observe ensuite petit à petit, la condensation au niveau du réfrigérant et la formation de gouttelettes jaune. Qui est d'abord plus léger que l'eau, mais qui devient plus pesante à mesure que la distillation avance. Ceci qui permet à l'huile de descendre au-dessous de l'eau lors de l'extraction et nous oblige de la récupérer rapidement afin de ne pas la perdre.

Stérilisation des micros tubes Eppendorf par éthanol pour récupérer l'huile dedans, ensuite on ouvre le robinet pour récupérer l'hydrolat dans l'Erlenmeyer et l'huile dans les micros tubes.

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



Figure 15 : Matériel d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle

5.2.Détermination du rendement en huile essentielle :

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

Le rendement est calculé par la forme suivante:

$$R = P_b / P_a \times 100$$

R : rendement de l'huile essentielle en %

P_b : quantité de l'huile essentielle en g

P_a : quantité du végétale en g

5.3.Préparation des doses des huiles essentielles :

Les concentrations préparées pour l'huile de citrus limon s'est déroulée au niveau du laboratoire de plantes aromatiques et médicinales, département de l'agronomie, faculté science naturelle, Université blidaI.

Pour la préparation de dilution de l'huile essentielle, nous avons utilisé un tensioactif (le tween 80) à 1 %. La dose l'huile essentielle préparée dans des fioles jaugées sous agitation est comme suit :

- La dose (D) : 0.1 g d'HE + 100 ml de tween + H₂O
- Témoin (T) : 100 ml de tween + H₂O

Ensuite, nous avons préparées les lanières en papier buvard de 18cm de long et de 5cm de largeur, imprégnées chacune par 2 ml de la solution (D)



Figure 16 : Disposition de lanière en papier buvard portant le traitement, sur les langes graissés.

(Photo professionnelles 2020)

5.4.Présentation des lots expérimentaux :

Dans le protocole adopté, nous avons travaillé sur 3 ruches infestées par *Varroa jacobsoni*, distribuées en deux lots (**T** : Témoin, **D** : Dilution 0.1 %)

Tableau 03 : Le protocole expérimental de traitement

Lots	Ruches	Type de traitement
T	R11	Témoin (sans traitement)
D	R6 et R9	Traité par une dose de 0.1% d'huile essentielle

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

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

Ce choix repose sur un fait :

- La majorité des varroas qui vont mourir tomberont sur les langes et il sera facile de les dénombrer (Robaux.19)

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

5.6.Méthode d'estimation du nombre d'abeille dans une colonie :

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

5.7.Méthode d'estimation du taux d'infestation d'une colonie :

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

Le taux d'infestation initiale (d°Ii0) est obtenu en faisant le rapport :

$$\left[D^{\circ}Ii_0 = B * 90 / P \right] \left[D^{\circ}Ii_0 = (A / 29) * 90 / P \right]$$

$$D^{\circ}Ii_0 = C / P$$

A : Correspond au nombre de varroa morts pendant un mois

B : Correspond à la mortalité journalière de varroa obtenue par une simple dilution A /29 jours.

C : Correspond au nombre de varroa estimé dans une colonie en faisant la multiplication C =Bx90 jours (90 jours correspond a la durée de vie des femelles varroas)

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

CHAPITRE II :

Résultats et discussions

1. Etude l'efficacité d'huile essentielle de citrus limon sur le *Varroa Jacobsoni* parasite d'*Apis mellifera* intermissa :

1.1. Résultats :

-Evaluation du rendement des huiles essentielles :

L'extraction par hydro distillation de 545 g de l'écorce de citron *Citrus limon* a donné une quantité de 2.5 ml (g) d'huile essentielle, avec laquelle nous avons calculé le rendement qui est de (0.45%).



Figure 17 : L'écorce de citron *Citus limon*.

- Test de toxicité des huilles essentielles de citrus limon sur l'abeille *Apis mellifera* :

Pour ce test, nous avons 8 abeilles dans une boîte Pétri avec une goutte (1ml) d'huile essentielle à concentration 0.1%, déposée sur la face interne au fond de la boîte qui est couverte par la suite avec un morceau de compresse. Après 10 min, 15 min d'observation, nous avons remarqué que les abeilles n'ont présenté aucune anomalie physique ou comportementale, elles se sont envolées à l'ouverture de la boîte. Alors ce test montre l'absence de toxicité d'huile essentielle pour les abeilles domestiques à cette concentration.



Figure 18 : Test de toxicité de l'huile essentielle

-Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches avant traitement par HE de *Citrus limon* :

Tableau 04 : Estimation du taux d'infestation initial des différentes ruches avant traitement par l'HE de *Citrus limon*.

Ruches	Nombre de varroa morts après une semaine (A)	Mortalité moyenne du varroa par jour (B=a/29)	Population de varroa estimée (C=B*90)	Population d'abeilles estimée (P)	Taux d'infestation initial par ruche (%) (d°li0= C/P)	Taux d'infestation initial par lot (%)
R6	30	1.03	92.7			
R9	5	0.17	15.3			

Conclusion

Depuis longtemps, la lutte contre la varroase est basée sur l'utilisation des acaricides de synthèse. L'usage de ces molécules chimiques à causer des problèmes tel que les résidus de ces substances dans le miel et la cire, le blocage de la ponte et l'accroissement de la résistance du parasite. L'abeille domestique *Apis mellifera* est un sujet d'étude d'autant plus pertinent qu'elle est l'outil de travail de plusieurs millions d'apiculteurs et participe activement par son activité pollinisatrice au maintien de biodiversité végétale.

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

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

- L'extraction de l'huile essentielle de *Citrus limonum* a été réalisée par Hydro distillation. La valeur du rendement en huile essentielle était de 0.45%. Cette valeur est importante par rapport aux proportions acquise auparavant par les études de la même espèce.

En raison des circonstances actuelles et des restrictions dues au Covid-19, il nous est malheureusement impossible de poursuivre nos recherches scientifiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **Abderrahim El Haib, 2011** : L'avantage de l'extraction assistée par Micro-ondes
2. **Anderson et truemann, 2000** : *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.*, 24, 165-189.

Application. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 136p.
Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora*
(Lemonscented)

3. **Andreson et truemann, 2000** : Systématique du *Varroa*.
4. **Arcaro, 2010** : Le rôle de l'abeille dans la biodiversité végétale.

B

5. **Baldensperger, 1922** : Sur l'apiculture en orient. Proceeding of the sixth international congress of apiculture, Marseille, France, pp59-64.
6. **Biri M, 2010 ; le contre, 2004** : La collecte du pollen.
7. **Biri M, 2010** : Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. Edition de Vecchi. Paris, 13-101.
8. **Biri M, 2011** : Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture (7^{ème} Edition). Paris : DE VECCHI.
9. **Boucher, 2010** : Taux de mortalité des abeilles.
10. **Bogdanov, 2006 ; Emsen et Dodoglu, 2009** : Résidus de l'apiguard dans le miel.
11. **ButtelReepen, H.V., 1906** : *Apistica Beitrage zur Systematik, der Honigbiene (Apis mellifera L), ihrer Varietäten und der übrigen*. Veroff. Zool. Museum Berlin, 117-201p.

C

12. **Calderone et al., 1998** : L'effet toxique de certaines essences et de leurs composants (L'utilisation des huiles essentielles)
13. **Charriere et Imdorf, 2002 ; Martin- Hernandez et al, 2007** : Méthode de lutte alternative contre *Varroa*. Brochure FAM 1-8.
14. **Colin et al, 1983** : Étude du premier foyer français de varroatoxose de l'abeille. *Bull. acad. vet. De France* 56 : (1) : 124-125.

D

15. **De guzman et Delfinado-Baker en 1955** : Description de *Varroa rindereri*.
16. **Delfinado-Baker et Aggrwake en 1987** : Description de *Varroa underwoodi*.

F

- 17. Fernandez et Coineau, 2002** : Varroa Tueur d'abeilles, bien le connaitre pour mieux le combattre .Ed. Atlatica (Anglet), 237p
- 18. Flomare, 2006** :Technique d'extraction d'huiles.

§

- 19. Giraudet, 2008** : Localisation des races géographiques.
- 20. Gilles, 2010** : La biologie de l'abeille. Ecole d'apiculture sud-Luxembourg.26P
- 21. Grobov, 1976** : la varroase de l'abeille mellifère.Apicta, 11, 145-148
- 22. Grobov, 1977** : la varroase de l'abeille mellifère.Apicta, 11, 145-148

ℒ

- 23. Le conte, 2008** : changements climatiques : impact sur les populations d'abeilles et leurs maladies.
- 24. Le conte Y, Ellis M, RiterW, 2010** : Varroa mites and honeybeehealth : can Varroa explain part of the colony losses ? Apidologie, 41, 353-363
- 25. Linnaeus, 1758** – mieux connaitre l'abeille.
- 26. Lodesani et al, 1992 ; Lodesani et al, 2008 ; Vguyen et al, 2009 ; Wallner, 1999** : Balduzzi D ; Galli A. (2004). A study on spermatozoaviability over time in honeybee (*Apis melliferaligustica*) queenspermathecae, J.Apic.Res.43 :27-28.

ℳ

- 27. Medori et colin, 1982** : Les abeilles comment les choisir et les protéger de leur ennemis.Ed.J.B.Baillière, p.33 et p.34 et p.35.
- 28. Melle Mebarkinoujdjoub, 2010** : Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse- antimicrobienne.
- 29. Michele et Bernard, 2018** : Ecologie de l'abeille, Apis melliferaunicolorlatreille.

ℴ

- 30. Oudemans en 1904** : Avenzoarialimocolae. Taxonomy.

ℵ

- 31. Pavel Klimov, 2017** : Genericrevision of the large-winged mite superfamilyGalumnoidea (acari, oribatida) of the wold.

32.

33. Pierroncharles, 2014 : Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : expemples applications en gériatrie-aerontologie et soins palliatifs.

34. Prost, 2005 et von Frisch, 2011 : L'apiculture. 7^{ème}Ed Lavoisier, p.133 et p.466 et p : 474-476 et p.590 et p.544.

R

35. Regard, 1988 : Le manuel de l'apiculture néophyte. Ed. lavoisier .p.12 et p.65.

36. Rosenkranz et al, 2010 : Biology and control of varroa destructor. Journal of InvertebratePathology, 103 : S96-S119

S

37. Segeren et Al, 2004 : L'apiculture dans les zones tropicales. Sixième édition. 93p.

38. Schaker, 2008 : A SpringwithoutBees How Colony Collapse Disorder Has Endangered Our Food Supply. Guilford, the Lyons Press, 292p.

39. Straub, 2007 : Threecategories of relationships

T

40. Treillers, 2002 : Utilisation d'huiles minérales dans la lutte contre Varroa destructor (Anderson et Truman, 2000) parasite de l'abeille. Thèse de Doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, 71p.

41. Topolaska, 2001 : Winter colonylosses in Poland. Journal of apiculturalResearch., 49 : 126-128.

V

42. VamEngelsdrop et al, 2009 ; VanEngelsdrop et meiner, 2010 : A historicalreview of managedhoneybee populations in europe and the United states and the factorsthatmay affect them. J.

W

43. Wendling, 2012 : Varroa destructor

44. Wilfert L et al, 2016 : Aneses, agence nationale de sécurité sanitaire, environnement travail. Propagation de varroa destructor.

45. Wilson et al, 2007 : The insectsocieties.