

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Hassiba Benbouali de Chlef
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des Sciences Agronomiques et Biotechnologiques



THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de
DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Sciences Agronomiques

Par

Benmoussa KOUACHE

Thème :

Valorisation des huiles essentielles de Lamiaceae Algériennes
(Genres : *Origanum* et *Thymus*)

Soutenue publiquement le 25 /07/2019 devant le jury composé de :

Mr. Mohamed KOUDJIL	Professeur Université Hassiba Benbouali de Chlef	Président
Mr. Abdenour AIT OUAZOU	MCA Université d'Alger	Examineur
Mr. Kamel HACHAMA	MCA Université Djillali Bounaama Khemis-Miliana	Examineur
M ^{me} . Malika MEZIANE	MCA Université Hassiba Benbouali de Chlef	Examinatrice
Mr. Abdelkader SAADI	Professeur Université Hassiba Benbouali de Chlef	Co-directeur de thèse
Mr. Moussa BRADA	Professeur Université Djillali Bounaama Khemis-Miliana	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je remercie le bon Dieu de m'avoir donné la foi et la sagesse tout en m'inclinant humblement devant sa bonté, lui qui m'a donné le courage d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier Monsieur KOUDJIL Mohamed, Professeur à l'Université Hassiba Benbouali de Chlef de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury ainsi que les membres de mon jury de thèse : Mme Malika MEZIANE, Maître de Conférence à l'Université Hassiba Benbouali de Chlef, Monsieur - HACHAMA Kamel, Maître de Conférence à l'Université de Djillali Bounaama de Khemis Miliana, Monsieur Ait Ouazzou Abdenour, Maître de conférences à l'Université d'Alger. Merci d'avoir accepté d'être membre de mon jury, merci d'avoir pris du temps pour lire mon travail et me permettre de l'améliorer.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur SAADI Abdelkader, Professeur, à l'Université de Chlef à qui j'exprime toute ma gratitude, ma plus profonde reconnaissance et mes sincères remerciements pour avoir accepté de codiriger ce travail ainsi que pour ses précieux conseils et son soutien.

Mes remerciements s'adressent au Professeur BRADA Moussa, Mon directeur de thèse : merci pour votre disponibilité tout au long de ce travail et pour tout ce que vous m'avez appris en huiles essentielles notamment sur les techniques chromatographiques. Merci de m'avoir consacré votre temps pour corriger ma thèse. Vous m'avez guidé pendant ces années et éclairé sur les voies les plus intéressantes à prendre. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.

Je ne saurais oublier l'aide précieuse des professeurs Marie Laure Fauconnier et Georges Lognay de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire à Gembloux Belgique pour effectuer une partie de ce travail. Je les remercie vivement pour leur collaboration.

Dédicaces

A la mémoire de ma femme, que puisse Allah l'accueillir en son vaste paradis.

A tous les membres de ma grande famille notamment mes parents, ma belle famille, mon épouse, mes enfants, mes sœurs, mes frères. Sans vous, rien n'aurait été possible, merci de votre soutien moral et de votre amour..

A tous mes amis qui m'ont permis de pouvoir finaliser ce travail. Les citer tous serait trop long. Ils se reconnaîtront.

Remerciements

Dedicaces

Tables des matières

Liste des abréviations

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

1

Chapitre I :

4

Description du matériel végétal et biologique

I-1- Matériel végétal :

4

I-1-1- Thym

5

I-1-1- 1-Description botanique

5

I-1-1- 2-Classification

6

I-1-1- 3-Répartition spatiale

6

I-1-1-3-1-Dans le monde

6

I-1-1-3-2-En Algérie

6

I-1-1- 4- Composition chimique

7

I-1-1-5- Propriétés thérapeutiques

7

I-1- 2- Origan

7

I-1- 2-1- Description botanique

7

I-1- 2-2- Classification

11

I-1- 2-3- Répartition spatiale

12

I-1- 2-3-1- Dans le monde

12

I-1- 2-3-2- En Algérie

13

I-1- 2-4- Composition chimique:

14

I-1- 2-5- Propriétés thérapeutiques

14

I-1-3- Huiles essentielles du thym et de l'origan

15

I-1-3-1- Définition

15

I-1-3- 2- Lieux de formation et d'accumulation

15

I-1-3- 3- Caractéristiques et propriétés physicochimiques

17

I-2- Matériel biologique : <i>Varroa destructor</i>	17
I-2-1- Introduction	17
I-2- 2- Taxonomie de <i>V. destructor</i>	17
I-2- 3- Répartition géographique	18
I-2- 3-1- Dans le monde :	18
I-2- 3-2- En Algérie	19
I-2- 4- Morphologie et anatomie du <i>V. destructor</i>	20
I-2- 4-1- Morphologie et cycle évolutif de la femelle adulte <i>V. destructor</i>	20
I-2- 4-2- Morphologie et cycle évolutif du male adulte du <i>V. destructor</i>	23
I-2- 5- Moyens de lutte contre <i>V. destructor</i>	24
I-2- 5-1- Acaricides chimiques	24
I-2- 5-2- Méthodes biotechniques et mécaniques	25
I-2- 5-3- Acaricides biologiques (bactéries, virus, champignons et composés naturels)	26
Chapitre II	
	27
Travaux antérieurs sur le genre <i>Thymus et Origanum</i>	
II- 1- Facteurs influençant le rendement et la composition chimiques des huiles essentielles	27
II-1-1- Chémotype	28
II-1-2- Cycle végétatif	28
II-1- 3- Organe producteur	29
II-1-4- Patrimoine génétique :	30
II-1- 5- Tissus sécréteurs	31
II-1- 6- Stade végétatif	33
II-1- 7- Parties sélectionnées :	33
II-1- 8- Méthode d'extraction	33
II-1- 9- Conditions de stockage et de conservation	35
II-1- 10- Ecologie et conditions culturales	35
II-2- Activité biologique des huiles essentielles	38
II-2-1- Activité antimicrobienne	39
II-2-2- Activité antifongique	40
II-2-3- Activité antioxydante	41
II-2-4- Activité insecticide	42
II-2-5- Activité larvicide	42
II-2-6- Activité acaricide (cas de la <i>Varroa destructor</i>)	44

Chapitre III :	
Matériel et méthodes	45
III-1- Matériel	46
III-1- 1- Matériel biologique:	46
III-1- 2- Matériel végétal	47
III-1- 3- Matériel apicole	48
III-3- 4- Matériel utilisé pour le diagnostic et la mesure du couvain	48
II-2- Méthodes	50
III-2-1-Détermination de la matière sèche	50
III-2-2-Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	50
III-2-2-1- Calcul du rendement	51
III-2-2-2- Cinétique d'extraction	51
III-2-3- Analyse chromatographique en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) de l'huile essentielle	51
III-2-4- Etude de l'activité acaricide des huiles essentielles	53
III-2-4-1- Test de diagnostic d'existence du varroa (période estivale)	54
III-2-4-2- Traitement du varroa	54
III-2-4-2-1- Traitement par pulvérisation	54
III-2-4-2-2- Traitement par fumigation	55
III-2-4-2-3- Traitement par ingestion	55
III-2-4-3- Variables mesurées	55
III-2-4-3-1- Estimation du nombre d'abeilles dans la colonie	55
III-2-4-3-2- Estimation du nombre de varroa dans la colonie	56
III-2-4-3-3- Estimation du taux d'infestation d'une colonie	57
III-2-5- Etude statistique	58
Chapitre IV:	
Résultats et discussion	59
IV-1- Répartition de la famille de lamiaceae à travers la wilaya d' Ain Defla	59
IV-1- 1- Genre <i>Thymus</i>	59
IV-1- 2- Genre <i>Origanum</i>	62
IV-2-Etude phytochimique de <i>T.algeriensis</i> et d' <i>O.vulgare</i>	64

IV-2-1-Extraction des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i>	64
IV-2-1-1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>T. algeriensis</i>	65
IV-2-1-2- Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de <i>T.algeriensis</i>	66
IV-2-1-3-Caractérisation des huiles essentielles de <i>T.algeriensis</i>	67
IV-2-2- Extraction des huiles essentielles d' <i>O.vulgare</i> L.	70
IV-2-2- 1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>O.vulgare</i> L.	71
IV-2-2- 2- Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d' <i>O..vulgare</i> L.	71
IV-2-2- 3- Caractérisation des huiles essentielles <i>d'O.vulgare</i> L.	73
IV-3- Activité acaricide des huiles essentielles du thym et de l'origan	75
IV-3-1-Traitement par pulvérisation	75
IV-3-1-1-Surface du couvain	75
IV-3-1-1-1- Lot témoin (lot1)	75
IV-3-1-1-2- Lot traité à 0,1% d'huile essentielle de thym (lot2)	77
IV-3-1-1-3- Lot traité à 0,3% d'huile essentielle de thym (lot3)	77
IV-3-1-1-4- Lot traité à 0,5% d'huile essentielle de thym (lot4)	78
IV-3-1-1-5- Evolution des surfaces des couvains	78
IV-3-1-2- Mortalité moyenne du <i>V.destructor</i>	79
IV-3-1-2-1- Lot témoin (lot1)	79
IV-3-1-2-2- Lot traité à 0,1% d'huile essentielle de thym (lot2)	80
IV-3-1-2-3- Lot traité à 0,3% d'huile essentielle de thym (lot3)	80
IV-3-1-2-4- Lot traité à 0,5% d'huile essentielle de thym (lot4)	80
IV-3-1-2-5- Evolution de la mortalité du <i>V.destructor</i>	82
IV-3-1-3-Détermination du taux d'infestation des colonies d'abeilles par le varroa après le traitement	83
IV-3-1-4- Discussion des résultats	84
IV-3-2-Traitement par fumigation	87
IV-3-2-1- Détermination du taux d'infestation initiale des colonies	88
IV-3-2-2-Traitement par fumigation du thym et de l'origan	89
IV-3-2-2-1- Calcul de la surface du couvain	89
IV-3-2-2-2- Mortalité du <i>V.destructor</i>	90
IV-3-2-2-2-1- Mortalité du <i>V. destructor</i> après traitement par la fumée de Thym	91
IV-3-2-2-2-2- Mortalité du <i>V. destructor</i> après traitement par la fumée de l'Origan	92
IV-3-2-2-2-3-Comparaison des mortalités du varroa destructor	92

IV-3-2-2-3- Déterminations du taux d'infestation après traitement.	93
IV-3-3- Traitement par ingestion (Nourissement)	96
IV-3-3-1- Détermination du taux d'infestation initiale des colonies	96
IV-3-3-1-1- Comptage des varroas	97
IV-3-3-1-2- Surface du couvain	97
IV-3-3-2- Traitement par ingestion durant la période hivernale	98
IV-3-3-2-1- Consommation du sirop par les abeilles	98
IV-3-3-2-1-1-Consommation du sirop par les abeilles du lot témoin	98
IV-3-3-2-1-2- Consommation du sirop à base de thym	99
IV-3-3-2-1-3-Consommation du sirop à base d'origan	99
IV-3-3-2-1-4- Evolution des consommations des sirops durant la période de traitement	100
IV-3-3-3-2- Calcul de la surface du couvain	100
IV-3-3-3-2-1- Calcul de la surface du couvain du lot témoin	100
IV-3-3-3-2-2- Calcul de la surface du couvain du lot traité par le thym	101
IV-3-3-3-2-3- Calcul de la surface du couvain du lot traité-par l'origan	101
IV-3-3-3-2-4- Evolution des surfaces des couvains	102
IV-3-3-3-3- Mortalité du <i>Varroa destructor</i>	103
IV-3-3-3-3-1-Mortalité du <i>V. destructor</i> du lot témoin	103
IV-3-3-3-3-2- Mortalité du <i>V.destructor</i> traité par le thym	103
IV-3-3-3-3-3- Mortalité du <i>V. destructor</i> traité par l'origan	104
IV-3-3-3-3-4- Comparaison des mortalités du <i>V.destructor</i>	105
IV-3-3-4- Détermination du taux d'infestation après traitement	106
IV-3-3-5- Discussion des résultats	107
Conclusion générale	109
Publication	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

AFNOR :	Association française de normalisation
AGI :	Acide gras insaturés
AGS :	Acide gras saturés
AFSSPS :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé
CMB:	Concentration minimale bactéricide
CMI :	Concentration minimale inhibitrice,
FAO :	Food and Agriculture Organization
GC/MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HD :	Hydrodistillation
HD-UAE :	Hydrodistillation assistée par ultrasons
HE :	Huile essentielle
HEs :	Huiles essentielles
HETA :	Huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i>
ISO :	International Standardization Organization
LC 50 :	Concentration létale médiane
LC 90 :	La dose létale, engendrant la mort de 90 % des individus d'une population animale donnée
MEB	microscope électronique à balayage
MHG :	Microwave Hydrodiffusion and Gravity (hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité)
<i>O.Vulgare :</i>	<i>Origanum vulgare</i>
SFME :	Solvent Free Microwave Extraction (extraction sans solvant assistée par micro-ondes)
ssp :	Sous espèce
THD	Turbohydrodistillation
Tr :	Tour
V	<i>Varroa</i>

ملخص:

استخلاص الزيوت الأساسية من اوراق الزعتر الجزائري المجني من منطقة عين الدفلى (الجزائر) عن طريق التقطير بالبخار اعطت مردود يتراوح من 3.16 إلى 5.15% ، وأظهرت حركية الاستخلاص أن أكثر من 73% من الزيوت العطرية تطلق خلال الساعة الاولى . حدد التحليل الكروماتوغرافي GC و GC/MS 22 مركبا ممثلة ل 95.3% من جميع مكونات الزعتر الجزائري .. المركبات الرئيسية هي

(8.2%) Thymol (11.9%) p-cymene (12.6%) γ -terpinene (44%) carvacrol .

اما دراسة نبات الزعيترة يبين ان، العوائد منخفضة للغاية ، فهي بين 0.02 - 0.09%. تم تحديد 19 مكونا يمثل 96.3% من إجمالي المواد المتطايرة المكونات الرئيسية هي :

(4.7%) linalool و (6.9%) p - cymene (18.4%) γ - terpinene (53.9%) carvacrol .

الزيوت العطرية لها تقلبات كبيرة ، سواء من حيث خصائصها الحسية أو تركيبها وأدائها. يرتبط هذا التباين بعوامل مختلفة مثل: الأنواع النباتية ، وفترة القطف ، وكذلك الظروف المناخية. معالجة الفاروا تمت باستعمال 03 طرق مختلفة التقنية عن طريق رش جرعات مختلفة من الزيت الاساسي لنبات الزعتر الجزائري (0.1 ، 0.3 و 0.5%) اعطت نتائج باهرة في خفض معدلات الإصابة بقراد النحل على التوالي 24.0% ، 32.4% و 32.6%. خلايا النحل المعالجة بزيوت الزعتر الجزائري بنسبة 0.5% اعطت افضل تطور لمساحة الحضنة (225 سم²) دون اثر سلبي على نشاط الخلية و تبيض الملكة . أما بالنسبة للعلاج بالتبخير، فان المعالجة خفضت معدل الإصابة الأولية من 11.4% الى 2.3% أي بنسبة انخفاض 9.9% بالنسبة للزعتر و 7% للزعيترة . المعالجة على شكل غداء خلال فترة الشتاء باستعمال زيوت الزعتر و الزعيترة لاطعام خلايا النحل لم تظهر النتائج فعالية المعالجة بسبب درجات الحرارة المنخفضة. ان شراب الزعيترة ضعيف النشاط القرادي مع انخفاض نسبة الإصابة و التي تتراوح بين 0.7 - 36.9% مقارنة مع شراب الزعتر و الشاهد (4.4% و 6.2%). للزيوت الاساسية لنبات الزعتر و الزعيترة خلال فترة الازهار نشاط قرادي ملحوظ على شكل اما الرش ، التبخير او الابتلاع وفقا للمواسم المختلفة (الربيع والصيف والشتاء) ان معالجة الفاروا المدمر بالزيوت الاساسية لنبات الزعتر و الزعيترة اثبتت فعاليتها و دون اثر سلبي على ملكة النحل و تبيض الملكة و يستحق أن يقترح كقراد الحيوي ضد الفاروا . ومع ذلك، فإن اختيار طريقة أو استراتيجية علاج ضد الفاروا لا تعتمد فقط على اختيار العلاج ولكن على فترة التطبيق، والجرعة و طريق الاستعمال، شروط لا غنى عنها.

كلمات المفاتيح : الزعتر، الزعيترة ، النشاط القرادي ، الفاروا المدمر ، الرش ، التبخير و الابتلاع GC/MS ، الزيت الاساسي

Résumé:

L'extraction des huiles essentielles (HEs) des feuilles des parties aériennes de *Thymus algeriensis* Boiss & Reut. récolté de la région Ain Defla (Algérie), a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu varie de 3.16 - 5.15%. La cinétique d'extraction des HEs a montré que plus de 73% des HEs sont libérées durant la première heure. Les analyses par la chromatographie en phase gaz (CG) et par et la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ont permis d'identifier 22 composés représentant 95.3% de la totalité des constituants pour l'espèce *T. algeriensis*. Les composés majoritaires sont carvacrol (44%), γ -terpinène (12.6%), p-cymène (11.9%) et thymol (8,2%). Quant à l'huile essentielle d'*O. vulgare*, les rendements sont extrêmement faibles, ils sont compris entre 0,02 - 0,09%. 19 constituants sont identifiés représentent 96,3% des produits volatils totaux de cette huile. Les principaux constituants sont le carvacrol (53,9%), γ -terpinène (18,4%), p-cymène (6,9%) et *linalol* (4,7%). Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant sur le plan de leurs propriétés organoleptiques, composition que sur leur rendement. Cette variabilité est liée aux différents facteurs telles que : l'espèce végétale, la période de récolte ainsi qu'aux conditions climatiques.

L'étude de l'activité acaricide par la technique par pulvérisation à différentes doses d'HE (0.1, 0.3 et 0.5%) a donné des résultats intéressants par une réduction du taux d'infestation avec respectivement 24.0%, 32.4% et 32.6%. Les ruches traitées par l'HE de *T. algeriensis* (0,5%) représentent la meilleure zone de couvain avec une évolution de 225 cm² sans effet négatif sur l'activité de la colonie d'abeilles et la ponte de la reine. La technique par pulvérisation montre que ces HEs sont inoffensives sur les abeilles de la colonie. Quant au traitement par fumigation, il permis de réduire le taux d'infestation initial de 11.4% à 2.3%, soit une diminution de 9 % pour le thym et de 7% pour l'origan. Le traitement par ingestion par les HE du thym et de l'origan pour le nourrissage des colonies d'abeilles pendant la période hivernale n'exteriorise pas pleinement son efficacité à cause des basses températures. Le sirop d'origan présente une faible activité acaricide avec un taux d'infestation du varroa variant de 0.7-36.9% comparativement à celles du thym et du témoin qui sont respectivement de 4.4% et 6.2%. Les HEs de *T. algeriensis* et d'*O. vulgare* durant la floraison, possèdent un pouvoir acaricide remarquable sous forme de pulvérisation, d'ingestion et de fumigation en fonction des diverses saisons (printemps, été et hiver).

Le traitement contre l'acarien *V. destructor* par les HEs du thym et de l'origan s'est révélé très efficace et n'a eu aucun effet négatif sur l'activité de la colonie d'abeilles et la ponte de la reine et mériterait d'être proposer comme un bio-acaricide contre la varroase, Cependant, le choix d'une méthode ou stratégie de lutte contre le varroa ne dépendra pas seulement du choix de traitement mais aussi de la période d'application, de la dose et de la voie d'administration.

Mots clés: *Thymus*, *Origanum*, activité acaricide, *Varroa destructor*, pulvérisation, fumigation, ingestion, GC/MS, Huile essentielle.

Abstract:

Extraction of the essential oils (EOs) from the leaves of the aerial parts of *Thymus algeriensis* Boiss & Reut harvested from the Ain Defla region (Algeria) was carried out by hydrodistillation. The best yield obtained varies from 3.16 - 5.15%. Extraction kinetics showed that more than 73% of essential oils are released during the first hour. Gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC / MS) analyzes identified 22 compounds representing 95.3% of all constituents for *T. algeriensis*. The major compounds are carvacrol (44%), γ -terpinene (12.6%), p-cymene (11.9%) and thymol (8.2%). As for the essential oil of *O. vulgare*, the yields are extremely low, they are between 0.02 - 0.09 %. 19 constituents are identified represent 96.3% of the total volatiles of this oil. The main constituents are carvacrol (53.9%), γ -terpinene (18.4%), p-cymene (6.9%) and linalool (4.7%). Essential oils have a great variability, both in terms of their organoleptic properties, composition and their performance. This variability is related to the different factors such as: the plant species, the harvest period as well as climatic conditions.

The spraying technique at different doses of EO (0.1, 0.3 and 0.5%) gives impressive results by reducing the infestation rate with respectively 24.0%, 32.4% and 32.6%. Hives treated with *T. algeriensis* EO (0.5%) represent the best brood area with an evolution of 225 cm² without negative effect on bee colony activity and queen spawning. The spray technique shows that these EOs are harmless to the bees of the colony. As for the fumigation treatment, it reduced the initial infestation rate from 11.4% to 2.3%, a decrease of 9 % for thyme and 7% for oregano.

EO ingestion of thyme and oregano for feeding bee colonies during the winter period does not fully express its effectiveness due to low temperatures. Oregano syrup has a low acaricidal activity with a varroa infestation rate of 0.7 - 36.9% compared to thyme and control of 4.4% and 6.2%, respectively. EO of *T. algeriensis* and *O. vulgare* during flowering has remarkable acaricidal potency in the form of spraying, ingestion and fumigation according to the various seasons (spring, summer and winter).

The *V. destructor* mite treatment with thyme and oregano essential oils was very effective and had no negative effect on the activity of the bee colony and the spawning of the queen. deserve to be proposed as a bio-acaricide against varroasis, However, the choice of a method or strategy for the control of varroa will not depend only on the choice of treatment but the period of application, dose and the route of administration, essential conditions.

Key words: *Thymus*, *Origanum*, Acaricidal activity, *Varroa destructor*, spraying, fumigation, ingestion, GC / MS, EO.

Liste des figures

Figure 1	<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut de Mekhateria 2013.	5
Figure 2	<i>Origanum vulgare</i> (Ietswaart ,1980)	11
Figure 3	Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	13
Figure 4	Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre (X 813)	16
Figure 5	Trois types de trichomes sur calice de <i>Lavendula. Angustifolia</i> (X500)	16
Figure 6	Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de. <i>lanata</i> L(X500)	16
Figure 7	Poil sécréteur contenant une goutte d'huile essentielle de <i>T. vulgaris</i> ,	16
Figure 8	Cellule sécrétrice ayant libéré son huile essentielle de <i>T vulgaris</i>	16
Figure 9	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inferieure de la feuille d' <i>O. vulgare</i>	16
Figure 10	Répartition géographique de <i>Varroa destructor</i>	19
Figure 11	Vues ventrales (a) et dorsales (a) de femelles <i>V. destructor</i>	21
Figure 12	Ontogénèse de <i>V. destructor</i> dans le couvain d'ouvrières.	22
Figure 13	Ontogénèse de <i>V.destructor</i> dans le couvain de faux – bourdon.	23
Figure 14	Mâle de <i>V. destructor</i> (adulte en vue ventrale)	24
Figure 15	Glande sécrétrice avec cuticule de la feuille de la menthe des jardins	32
Figure 16	Poils sécréteurs de la feuille <i>Thymus vulgaris</i>	32
Figure 17	Poils sécréteurs et beaucoup de poils tecteurs de la feuille <i>thymus vulgaris</i>	32
Figure 18	Glandes capitées sur des feuilles de <i>Lavendula .multifida</i>	32
Figure 19	Poches schizogènes d'une feuille d'eucalyptus citronné (X 204)	32
Figure 20	Coupe histologique d'une tige de Laurier noble (X10)	32
Figure 21	<i>Apis mellifera intermissa</i>	46
Figure 22	<i>Varroa</i> adulte femelle	47
Figure 23	Photo de <i>T.algeriensis</i> Boiss. &Reut	48
Figure 24	Photo de l' <i>O vulgare</i> L	48
Figure 25	Outils apicoles utilisés dans la méthode biologique “ pose des langes ” ou “ couvre-fond”	50
Figure 26	Hydrodistillateur de type Clevenger	53
Figure 27	Le site expérimental	54
Figure 28	l'équation de calcul de la surface de couvain	56
Figure 29	dénombrement des Varroas morts.	57
Figure 30	Espèces de Thym (photo personnelle)	
	(A) <i>Thymus fontanesii</i> (B) <i>Thymus ciliatus</i> (C) <i>Thymus algeriensis</i>	59

Figure 31	Carte de répartition de trois espèces de genre <i>Thymus</i> (<i>T. fontanesii</i> , <i>T. ciliatus</i> et <i>T. algeriensis</i>) dans la wilaya d'Ain Defla	60
Figure 32	Répartition de l'Origan à travers la wilaya d'Ain Defla	62
Figure 33	Photos de gauche à droite d' <i>Origanum vulgare</i> au stade de la floraison, touffes compactes, ramifiées, dans des sols arides et rocailloux	64
Figure 34	Influence de la période de récolte sur le rendement des HEs de <i>T. algeriensis</i>	65
Figure 35	Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i>	67
Figure 36	Rendement de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> L.	70
Figure 37	Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare</i> L.	72
Figure 38	Evolution de la surface moyenne du couvain (cm ²) des quatre lots	76
Figure 39	Comparaison de l'évolution de la surface moyenne du couvain (cm ²) entre les quatre lots.	79
Figure 40	Evolution de la mortalité du varroa des quatre lots	81
Figure 41	Evolution de la mortalité moyenne des quatre lots durant la période de traitement avec HETA	82
Figure 42	Surface moyenne des couvées pendant la période de pulvérisation par les huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> (HETA) à différentes doses : 0,1%; 0,3%; 0,5% et témoin.	85
Figure 43	Mortalité moyenne de Varroa pendant la période de pulvérisation par les huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> (HETA) à différentes doses. 0,1%; 0,3%; 0,5% et témoin.	86
Figure 44	Evolution des surfaces des couvains des trois lots en fonction de la période de traitement	90
Figure 45	Evolution des mortalités moyennes du varroa dans les 03 lots durant l'année 2012	93
Figure 46	Evolution de la surface du couvain (cm ²) pendant la période estivale durant l'année 2011	98
Figure 47	Consommation de sirop par le lot témoin, du thym et de l'origan (ml)	101
Figure 48	Evolution des surfaces moyennes du couvain	103
Figure 49	Comparaison de l'évolution des mortalités des lots témoin, thym et l'origan	106

Liste des tableaux

Tableau I.	Localisation des principales espèces de genre <i>Thymus</i> en Algérie.	8
Tableau II	Principaux composés des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> (%) provenant de différents pays.	9
Tableau III	Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie	14
Tableau IV	Chémotypes des huiles essentielles de <i>Thymus</i> et d' <i>Origanum</i> .	29
Tableau V	Influence de stade végétatif sur le rendement et la composition chimique d'HEs.	30
Tableau VI	Influence du mode et temps d'extraction sur le rendement et la composition des huiles essentielles	34
Tableau VII	Influence de l'origine botanique sur le rendement et la composition d'HE.	36
Tableau VIII	Influence de la fréquence et l'intensité des précipitations sur le rendement et la composition d'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut	37
Tableau IX	Influence de la période de récolte sur le rendement et la composition chimique des HEs.	38
Tableau X	Influence de l'altitude sur le rendement et la composition des HEs.	39
Tableau XI	CMI et CMB de quelques huiles essentielles contre <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> et <i>S.aureus</i>	40
Tableau XII	Concentrations létales des huiles essentielles contre quelques espèces de moustiques (larve).	43
Tableau XIII	Dimension internes (mm) des cadres Dadant et Langstroth	55
Tableau XIV	Répartition du Thym au niveau de la Wilaya d'Ain Defla	61
Tableau XV	Répartition de l'origan au niveau de la Wilaya d'Ain-Defla	63
Tableau XVI	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>T.algeriensis</i>	66
Tableau XVII	Composition chimique de l'huile de <i>Thymus algeriensis</i>	68
Tableau XVIII	Variation de la composition chimique de l'huile de <i>T.algeriensis</i> au cours de l'extraction.	69
Tableau XIX	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>O .vulgare</i>	71
Tableau XX	Composition chimique de l'huile d' <i>O. vulgare</i>	74
Tableau XXI	Détermination du taux d'infestation des colonies d'abeilles par le varroa après le traitement par pulvérisation des HEs	83

Tableau XXII	Détermination du taux d'infestation initial.	88
Tableau XXIII	Mortalité naturelle moyenne du varroa dans le lot témoin	91
Tableau XXIV	Mortalité moyenne du varroa dans le lot traité par la fumée de thym	92
Tableau XXV	Mortalité moyenne du varroa dans le lot traité par la fumée de l'origan	92
Tableau XXVI	Détermination du taux d'infestation final	94
Tableau XXVII	Détermination du taux d'infestation initial.	97
Tableau XXVIII	Consommation moyenne du sirop de sucre du lot témoin (ml)	99
Tableau XXIX	Consommation moyenne de sirop de sucre traité par le thym en (ml)	99
Tableau XXX	Consommation moyenne de sirop de sucre traité par l'origan en (ml)	100
Tableau XXXI	Evolution de la surface du couvain du lot témoin	101
Tableau XXXII	Evolution de la surface du couvain du lot traité par le thym	102
Tableau XXXIII	Evolution de la surface du couvain du lot traité par l'origan	102
Tableau XXXIV	Evolution de la mortalité moyenne du varroa du lot témoin durant l'année 2011-2012	104
Tableau XXXV	Evolution de la mortalité du varroa dans le lot traité par le thym	105
Tableau XXXVI	Détermination du taux d'infestation final	106
Tableau XXXVII	Détermination du taux d'infestation final	108

INTRODUCTION

En Algérie, la production animale avec ces différentes filières a connu un très grand développement suite à des politiques d'intensification de la production (Programme de soutien) afin de répondre à une demande sans cesse grandissante en produits d'origine animale. D'un autre côté, le fait de booster une production n'est pas sans conséquences, ceci se traduit en général par une fragilisation de l'espèce animale ainsi que par des impacts sur le plan environnemental (FAO, 2009). Dans le même ordre d'idée, la production de miel qui demeure une activité lucrative, surtout pour les populations des zones montagneuses, n'échappe pas à ce constat. A cet effet, Cervoet *al.*, (2014) rapportent que parmi les défis environnementaux et économiques auxquels nous devons faire face aujourd'hui réside en la disparition de l'abeille, et par voie de conséquences, la disparition des ruches au niveau mondial. Les mêmes auteurs rajoutent que cette situation aurait été engendrée, entre autres, par le *Varroa destructor* qui représente l'une des principales causes de pertes des ruches.

Certains auteurs relatent qu'il ne faut pas plus de 5 années pour que 10 *Varroa* initiaux engendrent une population qui dépasse les 15000 individus, ce qui entrainerait une réduction de 50% de colonies d'abeilles pendant la période hivernale (Guillot, 2009) et de 40% durant la période printanière (Buchler et *al.*, 2010). Bradbear (2010) rajoute quant à lui qu'à ce rythme, il y'a risque de perdre cette espèce qui joue un rôle très important dans l'équilibre écologique. Certains auteurs considèrent que le *Varroa destructor* est le parasite le plus dangereux d'*Apis mellifera* (Colin, 1989 ; Rosenkranz, 2009 et Wendling, 2012). D'autres auteurs appuient ce constat et l'explique par des maladies virales et bactériennes qu'il peut activer ou transmettre d'une colonie à une autre (Ryabov et *al.*, 2014).

Quant aux impacts du *Varroa destructor*, ils peuvent se refléter par des pertes de colonies et ce par la diminution qualitative et quantitative de la production du miel (Baker et Peng, 1995 et De Jong et *al.*, 1982) et de la pollinisation (Spivak, 1997). Plusieurs auteurs rapportent que le varroa peut être trouvé sur les abeilles adultes, sur le couvain et dans les débris de la ruche (De Jong et Goncalves, 1982 et Amdam et *al.*, 2004). L'acarien peut nuire, à la fois et directement, les colonies et les abeilles en endommageant les ouvrières durant le stade nymphe. Selon d'autres auteurs le varroa aggrave la situation par la transmission des virus (Brødsgaard et *al.*, 2000; Tentcheva et *al.*, 2004 et Boecking et Genersch, 2008) et causerait même l'effondrement de la colonie d'abeille (Boecking et Genersch 2008; Hayes et *al.*, 2008 ; Genersch et *al.*, 2010 et Potts et *al.*, 2010).

Afin de contrecarrer les effets néfastes du *V. destructor* décrits ci-haut, plusieurs auteurs, se sont penchés sur l'extension de l'acararien parasite *V. destructor* aux abeilles, ce qui les a incités à la réalisation de nombreux travaux de recherches, dont la majorité se sont focalisés sur les aspects de la lutte contre le *Varroa* par des moyens chimiques essentiellement (Milani et Barbattini, 1988; Alonso De Vega *et al.*, 1990 et Milani et Job, 1998). Or, ces derniers ne se sont avérés efficaces que sur les varroas adultes hors couvain. Vu que le varroa se reproduit dans le couvain operculé, aucun traitement ne s'est montré efficace contre les individus installés dans les cellules de nymphe (Le Conte *et al.*, 1991 ; Aleš Gregorc et Ivo Planinc, 2013 et Ales Gregorc *et al.*, 2016). Lodesani *et al.*, (1995) et Lodesani et Costa (2005) rapportent quant à eux, que le développement de souches résistantes de mites ne serait qu'un facteur aggravant et que le varroa développerait une résistance pour presque toutes les substances chimiques utilisées malgré l'existence de différentes classes d'acaricides tels que selon , (Spreafico *et al.*, 2001; Thompson *et al.*, 2002 et Pohorecka et Bober, 2008), qu'elles soient à base de fluvalinate (Milani, 1999 ;Elzen *et al.*, 2000; Mozes-Koch *et al.*, 2000 et Floris *et al.*, 2001) ou de coumaphos (Elzen *et al.*, 2000 ; Eizen *et al.*, 2001 et Elzen et Westevelt, 2002).Egalement, ceci est valable aussi pour les acides organiques naturels qui selon Gregorc et Poklukar (2003); Nanettiet *al.* (2003); Rademacher et Imdorf (2004); Sattaet *al.* (2005); Bacandritsos *et al.*,(2007); Aliano et Ellis (2008); Emsen et Dodologlu (2009) et Mahmood *et al.* (2012). Néanmoins, les résidus de ces produits chimiques ont des effets néfastes sur l'environnement (Colin, 1990; Macedo *et al.*, 2002 et Lodesani, 2004) et qui se trouvent même en quantités potentiellement dangereuses dans les produits de la ruche (Vandame *et al.*, (1996); Chapleau et Giovenazzo, (2004) et Simoneau, (2004)).

Vu les moyens de lutte chimique très limités ainsi que des incidences sur les produits de la ruche et sur l'environnement, les chercheurs se sont retournés vers des solutions biologiques. A cet effet, Burt (2004); Bakkali *et al.*,(2008) et Lang et Buchbauer, (2011) notent que les pays du bassin méditerranéen, offre une gamme de végétation très riche et diverse ayant une grande affinité avec les abeilles du fait de leurs multifonctionnalités, de la diversité de leurs natures chimiques et de leurs constituants. Plusieurs auteurs ont attiré l'attention de l'utilisation huiles essentielles dans la lutte contre le varroa. Ainsi, plusieurs auteurs ont remarqué que la majorité des activités des abeilles augmenteraient graduellement après traitements des ruches par des huiles essentielles, (Whittington *et al.*, (2000) et El-Nabarawy *et al.*, (2002). Imdorf *et al.*,(1999) rapportent que les huiles essentielles peuvent

être utilisées comme fumigants dans la ruche ou encore comme traitement de contact (Colin et Gonzalez-Lopez 1986).

Par ailleurs, il est à noter que dans la ruche, les fumigants ont l'inconvénient de nécessiter de la chaleur pour leur sublimation ou leur évaporation, ce qui les rend moins efficace par temps froid (Otis et Scott-Dupree. 1992). Néanmoins, les composés chimiques (menthol, le thymol et le carvacrol) ont été jugés efficaces dans la gestion contre les acariens dans les ruches d'abeilles (Imdorf et *al.*, 1999; Kevan et *al.*, 2003 et Timothy et *al.*, 2007).

Face à une telle situation, la recherche de substances naturelles d'origine botanique, à effet acaricide, serait une bonne alternative pour le contrôle des acariens. La flore Algérienne mérite d'être explorée davantage. Nous nous sommes intéressés à deux espèces de la famille des Lamiacées qui s'y développent naturellement telle que *T. algeriensis* et *O. vulgare* et méritent d'être prospectée dans le cadre d'une lutte intégrée contre le *Varroa destructor*.

C'est dans ce contexte que s'insère le présent travail qui vise à étudier l'effet des huiles essentielles extraites, réputées pour leurs propriétés acaricides (Isman, 2006 et Santosh Shiwakoti et *al.*, 2016), riches en carvacrol (Bakkali Aissaoui et El Amrani, 2018).

Notre étude est subdivisée en deux sections différentes: une section correspondant à une synthèse bibliographique et une autre correspondant au travail expérimental. Chaque section est divisée en deux parties :

Partie bibliographique:

Chapitre I. Description du matériel végétal et biologique

Chapitre II: Travaux antérieurs

Partie expérimental:

Chapitre III. Matériel et méthodes

Chapitre IV. Résultats et discussion qui consistent en:

- L'extraction et la récupération des huiles essentielles par hydrodistillation
- Caractérisation des huiles essentielles par la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM);
- Activité acaricide des HEs du thym et de l'origan par :
 - Pulvérisation
 - Fumigation
 - Ingestion

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Description du matériel végétal et biologique

I-1- Matériel végétal

Depuis l'antiquité, l'homme utilisait les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite, il s'est développé pour les utiliser comme médicament et remède afin de soigner les différentes maladies. Jusqu'à maintenant, les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essaient de synthétiser de nouvelles molécules. D'après des études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (Damintoti, 2005).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Benkiki, 2006).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine, animale et en cosmétologie (Naghibi et *al.*, 2005 ; Babulka, 2007).

On appelle plantes aromatiques, les plantes capables de synthétiser une essence ou bien une huile essentielle. Parmi les espèces végétales, seule 10% possèdent cette capacité. Selon les espèces, les organes sécréteurs d'essence peuvent se trouver dans les sommités fleuries, les graines, les fruits, les feuilles, les rhizomes, les racines et l'écorce (Chassing, 2006).

La famille des *Lamiacées* est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghibi et *al.*, 2005). C'est une famille de grande importance aussi bien pour son utilisation dans l'industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongiques, anti-inflammatoire et antioxydant (Bouhdid et *al.*, 2006 ; Hilan et *al.*, 2006 et Belkhiri et Baghiani., 2017). Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel.

De nombreuses propriétés leurs sont conférées : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...les huiles essentielles par la diversité des constituants qui les composent, sont des substances très actives (Bakkali.,2008; Hilan et *al.*, 2006).

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (Miller et *al.*, 2006). La région méditerranéenne a été le centre principal pour la domestication et la culture de Labiatea, Lamiaceae, caractérisée par des plantes productrices d'huiles essentielles (Naghibi et *al.*, 2005). Les genres les plus cités dans la littérature sont : *Salvia officinalis*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinum basilicum*, *Thymus vulgaris* (Lee et *al.*, 2005).

I-1-1- le thym

I-1-1- 1-Description botanique

Les thyms (*Thymus*) sont des plantes basses sous -ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur (Figure1). Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes oxygénés. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Bouaoun et *al.*, 2007).



Fig 1 : *Thymus algeriensis* Boiss. & Reutde Mekhateria.
(Personnel, 2013).

I-1-1- 2-Classification

Selon la classification classique des plantes (Morales,2002),*Thymus* spsuit la classification suivante :

Règne :	Plante
Sous règne :	Plante vasculaire
Embranchement :	Spermaphytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Dialypétales
Ordre :	Labiales
Famille :	Lamiacées
Genre :	Thymus
Espèce :	<i>Thymus vulgaris</i> L (<u>Carl von Linné</u> , 1753). <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. & Reut, <i>Thymus ciliatus</i> (Desf.) Benth <i>Thymus fontanesii</i> Boiss. & Reut

I-1-1- 3-Répartition spatiale

I-1-1-3-1-Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Cosentino et al.,1999). Selon Dob et al., (2006), il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est une plante très répandue à l'ouest de l'Afrique du nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes de l'Ethiopie et d'Arabie du sud - ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar et al., (2005), environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

I-1-1-3-2- En Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales eu égard de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. Le thym de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Saidj, 2006). Parmi ces dernières, certaines sont endémiques de

l'Algérie, telles que *Thymus pallescens* de Noé, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé., *Thymus lanceolatus* Desf et *Thymus algeriensis* (Hazzit *et al.*, 2009). Sa répartition géographique est représentée dans le (Tableau I).

I-1-1-4- Composition chimique

Le genre *Thymus* est représenté par douze espèces dans la flore d'Algérie, dont *T. algeriensis* Boiss est l'espèce Nord-Africaine la plus endémique et la plus connue sous le nom de "Zaatar". La composition chimique de l'huile essentielle de *T. algeriensis* a été largement étudiée dans différents pays du Maghreb (Ben El Hadj Ali *et al.*, 2015 ; Giweli *et al.*, 2013) et l'existence de plusieurs chémotypes a été mise en évidence (Tableau II).

I-1-1-5- Propriétés thérapeutiques

Thymus algeriensis Boiss & Reut. est une espèce endémique de l'Afrique du Nord. En Algérie, cette espèce est utilisée dans les traitements des affections respiratoires (rhumes, gripes, angines), les troubles gastriques (dyspepsies, crampes, flatuosités), dans le manque d'appétit et la digestion pénible (Guy, 2005). Il est recommandé pour les sciaticques, les douleurs des reins et de la vessie, la colite et les ballonnements, il est utilisé aussi contre la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses (Madi, 2010).

Cette plante aromatique très odorante, est utilisée dans la cuisine algérienne pour faire les différents plats; elle est traditionnellement utilisée pour la préparation de tisanes et pour aromatiser la viande de volaille en particulier (Benbelaïd *et al.*, 2013)

Les huiles essentielles de thym sont également utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques (Loïc, 2006) et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (Papageorgio, 1980), stomachique et carminative (Paul, 2008). Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Nielsen *et al.*, 2000 ; Lamiri *et al.*, 2001 ; Cimanga *et al.*, 2002 et Yakhlef, 2010).

I-1- 2- L'origan

I-1- 2-1- Description botanique

Le nom « Oregano » (en français origan) est une plante herbacée vivace communément utilisée à travers le monde pour définir un arôme et une saveur épicée (Richard, 1974).

Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des Lamiacées, regroupe 38 espèces, 75% sont concentrés dans le pourtour méditerranéen et en particulier dans les régions méditerranéennes de l'Est (Vokou *et al.*, 1993). Dans l'espèce *Origanum vulgare*, il existe 6

sub-espèces qui diffèrent par le nombre des glandes, des bractées et des calices, ainsi que par la taille et la couleur des bractées et des fleurs (Greuter et *al.*, 1986 ; Kokkini, 1996).

Tableau I: Localisation des principales espèces du genre *Thymus* en Algérie

Espèces	Localisation	Appellation	Auteurs
<i>Thymus capitatus</i> (Hoffman et Link)	Rare dans la région de Tlemcen	Zaatar	Dob et <i>al.</i> ,(2006) Saidj, (2006)
<i>Thymus palleescens</i> (Noé)	Plante endémique du nord de l'Algérie	Zaatar	Hazzit et <i>al.</i> , (2009)
<i>Thymus dreatensis</i> (Battandier)	Plante endémique des montagnes Aures (Batna région) et les montagnes du Djurdjura (région de l'Est) Kabylie	Zaatar	Quezel et Santa, (1963) Hazzit et <i>al.</i> , (2009)
<i>Thymus guyonii</i> (Noé)	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et oranais et constantinois.		Hazzit et <i>al.</i> , (2009)
<i>Thymus lanceolatus</i> (Desfontaines)	Le secteur de l'atlas tellien (terni de Médéa et Benchicao) et sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret).	Zaatar	Hazzit et <i>al.</i> , (2009)
<i>Thymus pallidus</i> (Coss)	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas saharien.	Tizerdite	Dob et <i>al.</i> ,(2006)
<i>Thymus hirtus</i> (Willd)	Commun sauf sur littoral.	Djertil Hamrya	Saidj, (2006) Dob et <i>al.</i> ,(2006)
<i>Thymus algeriensis</i> (Boiss et Reuter)	Très commun dans les hauts plateaux algérois et oranais.	Djertil Zaitra	Hazzit et <i>al.</i> , (2009)
<i>Thymus fontanesii</i> (Boiss et Reuter)	commun dans le tel, endémique Est Algérie- Tunisie	Zaatar	Dob et <i>al.</i> ,(2006) Saidj, (2006)
<i>Thymus numidicus</i> (Poiret)	Assez rare dans l'Atlas tellien, grande et petite Kabylie, Skikda et tell constantinois.	Tizaatarte	Dob et <i>al.</i> ,(2006) Saidj, (2006)
<i>Thymus serpyllum</i> (Carl von Linné)	Région de Tebessa	zaatar	Tamert et <i>al.</i> ,(2017) Madi A. (2010)
<i>Thymus vulgaris</i> (Carl von Linné)	Région de Tebessa	zaatar	Tamert et <i>al.</i> ,(2017)

Tableau II : Principaux composés des huiles essentielles de *T. algeriensis* provenant de différents pays

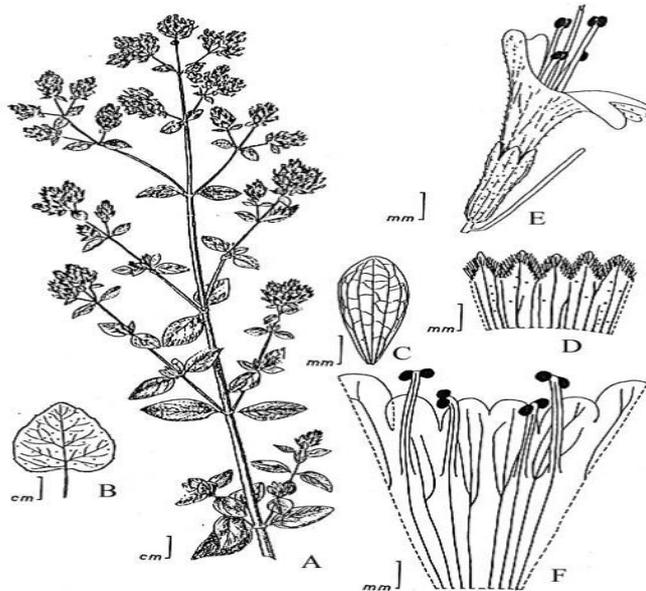
Pays	Auteurs	Composés majoritaires (%)								
		Carvacrol	Thymol	p-Cymene	γ -Terpinene	Linalool	1,8-Cineole	4-Terpineol	β -Pinene	Camphor
Libye	Aboutabl et al.1995		36,8	20,2						
	Giweli et al .2013	4,69	38,50	8,91	7,19					
	Nikolić et al .2014		38,5	8,9	7.1					
Maroc	Benjilali et al.1987	22,8–70,3	14,4- 65,1							
	Zayyad et al. 2014	8,1	37,78	11,72	15,13					
	Jaafari et al. 2007	80,4	3,4	5,0	2,0	1,8				
		49,3	0.8	2,6	0,9	0,8				
	Amarti et al.2011								20,5	27,7
Tunisie	Zouari et al.2012						7,6 – 22,1	1,6 – 11,9	7,4 - 13.9	6,8 – 19,9
	Ben El Hadj Ali et al. 2010						17,7		15,5	8,2
Algérie	Hazzit et al .2009		29,5	13	6,9					
				9,9			6,5	10.6	6,5	10,1
	Dob et al .2006		29,2	6,8		43,3				
	Chemat et al .2012	4	71		3	0,5				
	Houmani et al .2002		62,7							
						78,8				
Giordiani et al .2008						7,7		27,1 – 25,5	8.8 – 8,5	

En Algérie, Ce genre regroupe 3 espèces qui sont: *Origanum majorana* (L.), *Origanum glandulosum* (Desf.) et *Origanum floribundum* (Munby) (Quezelet Santa, 1963).

Origanum vulgare L. ssp. *Glandulosum* est une plante odorante qui appartient à la famille des lamiacées. Elle est endémique (Baba Aïssa, 1999; Boulos, 1983) et pousse spontanément dans le nord de l'Afrique (en Algérie et en Tunisie en particulier) (Quezel et Santa, 1963 et Sari, 1999). Ce nom commun recouvre en réalité une soixantaine d'espèces. La majorité d'entre elles appartiennent aux familles botaniques des Lamiaceae et des Verbenaceae, avec une distinction nette entre les «Oregano» européens (*Origanum* sp.) et mexicains (*Lippia* sp.) (Kintzios 2002). La taxonomie au sein du genre *Origanum* est assez complexe. Ce genre se caractérise par une grande variabilité morphologique et chimique. (Pasquier 1996 et 2000; Figueredo, 2007) conduisant à l'enregistrement d'une cinquantaine d'espèces, sous-espèces et variétés. Elle pousse dans les régions montagneuses entre 1000 et 3000 mètres d'altitude, dans des habitats divers de préférence sur des sols calcaires et fleurit de juin à septembre.

Les plants atteignent le plus souvent une taille allant de 10 à 60 cm. Les tiges sont velues et pourvues de feuilles arrondies, vertes et un peu denté, les portions les plus basses sont en général ligneuses et persistantes. La plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés). (Ietswaart, 1980). Les feuilles sont sessiles, sub-sessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire (Figure 2).

Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur les tiges, bractées, calices et corolles, Les fleurs sont roses ou pourpres et sont regroupées en de petits épis, portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert.



A : tige entière B : feuille C : bractée D : calice coupé par la lèvre inférieure
 E : fleur avec bractée avec vue de côté F : corolle coupée par la lèvre inférieure

Fig 2 : *Origanum Vulgaire* (Ietswaart ,1980).

De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections (Ietswaart, 1980 ; Carlier, 2006). Le calice est la partie la plus variable, dans le genre *Origanum* il possède 5 dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées. La corolle est en forme de tube, dressée avec 2 lèvres de 3 à 14 mm, sa couleur est blanche, rose ou pourpre. Les étamines peuvent être de forme et de taille très différentes et sont adaptées à la pollinisation par les insectes, les fruits sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large.

I-1- 2-2- Classification botanique

Plus de 300 noms scientifiques ont été donnés au cours des 150 dernières années à plus de 70 espèces d'origan suite a sa grande diversité morphologique et chimique (Kintzios, 2002 ; Thompson et *al.* 2013). La position systématique d'*Origanum vulgare* d'après Guignard (1996), Dans la classification actuelle est la suivante

Classification

Embranchement :	Spermaphytes
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Gamopétales
Série :	Superovariées tétra cycliques
Super ordre :	Tubi florales
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Sous-famille :	Népétoïdées
Genre :	<i>Origanum</i>
Espèce :	<i>Origanum vulgare</i> (Deysson 1967)
Sous espèce :	<i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>glandulosum</i>

I-1- 2-3- Répartition spatiale

I-1- 2-3-1- Dans le monde

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par (Ietswaart, 1980). Il reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces, 3 variétés et 16 hybrides. *Origanum vulgare* est une espèce qui possède une aire de répartition extrêmement étendue ; on la trouve aux Açores, à Madère, aux Canaries, autour de la Méditerranée, en Europe du Nord (Finlande, Norvège, Suède), de l'ouest à l'est de l'Asie, en Asie centrale et à Taiwan. Cette espèce pousse du niveau de la mer jusqu'à 4 000 mètres d'altitude. La plupart du temps, on la rencontre sur les sols calcaires, avec une floraison de mai à octobre. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante (figure 3). Certaines espèces sont endémiques à un pays. Par exemple, *O. saccatum*, *O. boissieri*, *O. hypericifolium*, *O. sipyleum*, *O. acutidens*, *O. haussknechtii*, *O. brevidens*, etc... sont particuliers à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum*, puisqu'il en possède 16 espèces (Baser, 1995) De plus, la Turquie est aussi un important centre génique de la famille des Lamiaceae. La Grèce compte 11 espèces tandis que la Crète en compte 5 (Greuter et al., 1986).



Fig 3 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980)

I-1- 2-3-2- En Algérie

L'origan est une plante spontanée endémique (Quezel et Santa, 1963), qui pousse au nord de l'Afrique (Algérie et Tunisie) (Ietswaart, 1980). Elle est représentée par deux espèces : *Origanum Vulgare* et *Origanum glandulosum*. Très commune dans les endroits secs et ensoleillés tel que le Tell, elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires (Baba Aissa, 1990). Le Tableau III indique la localisation des deux espèces.

Tableau III. Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie

Espèces	Localisation et caractéristiques	Appellation	Auteurs
<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Ietswaart	Commune dans tout le Tell. Endémique Algéro-Tunisienne. Elle pousse dans les garrigues et broussaille.	zaâtar	Quezel et Santa, (1963) Baba Aissa, (1990)
<i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>glandulosum</i> Mumby	Elle pousse en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique d'Algérie	zaâtar	Quezel et Santa, (1963) Baba Aissa, (1990)
<i>Origanum vulgre</i> (Deysson, 1967)	Massif Dahra- Zaccar	Zaiitra	Beloud, (1998)

I-1- 2-4- Composition chimique

Deux chemotypes ont été signalés pour l'huile d'*Origanum glandulosum* de la région de Sétif (Algérie) : chemotype à thymol et l'autre à carvacrol (Ruberto et al. 2002 & 2006 ; Sari et al., 2006).

Une autre étude réalisée sur la même plante (Houmani et al., 2002) récoltée dans la région d'Alger, a permis d'obtenir des teneurs élevées en thymol (55,6%) suivi de p-cymène (12,5%), de γ -terpinène (11,20%) et de carvacrol (2,70%). Par ailleurs, Belhattab et al. (2005) ont trouvé que l'huile essentielle d'*O.glandulosum* de la région de Sétif (Algérie), présente une forte teneur en carvacrol (47%), suivi de γ -terpinène (13,4%), p-cymène (11,2%) et de thymol (6,6%). En 2006, Sari et al. ont identifiés 30 composés dans l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récolté de l'Est de l'Algérie représentant un pourcentage variant entre (97,7% et 99,6%) par contre Bendahou et al. (2007) ont montré l'existence du thymol composé majoritaire avec un pourcentage de 55,6% .

I-1- 2-5- Propriétés thérapeutiques

Les espèces du genre *Origanum* sont connu depuis l'antiquité pour leurs qualités médicinales, contre la coqueluche, la toux, la fièvre, la bronchite (Ruberto et al., 2002 ; Erdogan et Belhattab, 2010), le rhume et le rhumatisme (Anton et Lobstein, 2005 ; Bekhechi et al., 2008). Elles sont utilisées comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les produits cosmétiques (Richard, 1974; Pierron, 2014). L'Origan est très utilisé dans les préparations culinaires (soupes et en particulier avec les viandes et les poissons grillés) et est employée en industrie alimentaire en tant qu'épices (Basli et al., 2012).

En effet, c'est une plante rééquilibrante et sédative en cas d'insomnie et de nervosité (Padrini et Lucheroni, 1996 ; Belhattab et al., 2005).

Les huiles essentielles de cette plante ont montré un effet inhibiteur sur les levures et les moisissures isolées (Belhattab et al., 2004). Plusieurs auteurs ont rapporté que les huiles essentielles des différentes espèces d'*Origanum* possèdent des activités antibactériennes (Pizzalatal., 2002; Sari et al., 2006), antifongiques (Charai et al., 1996) et une activité antioxydante considérable qui est due à la présence des composés phénoliques (thymol et carvacrol) (Ruberto et al., 2002).

I -1-3- Les huiles essentielles du thym et de l'origan

I -1-3-1- Définition

Le terme “huile essentielle” a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse Paracelsus von Hohenheim afin de désigner le composé actif d'un remède naturel (Burt, 2004).

L'huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (AFSSAPS, 2008).

Les huiles essentielles sont définies comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche (AFNOR, 2000 et 2010)

Certaines espèces en sécrétant des huiles essentielles représentent une stratégie pour attirer les insectes pollinisateurs (Belanger et Khanizadeh, 1995 ; Bruneton, 1999). Pour d'autres, elles constituent une arme de défense contre divers agresseurs (champignons, insectes, micro-organismes, herbivores, acariens) (Guinoiseau, 2010).

I -1-3- 2- Lieux de formation et d'accumulation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante, à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule (Iriti et *al.*, 2006), à savoir les poches sécrétrices (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*), les poils sécréteurs ou trichomes (*Lamiaceae*) et les cellules sécrétrices (*Zingiberaceae*, *Lauraceae*) (Fekam Boyom, 1992 ; Bruneton, 1993 ; Clarenton, 1999 ; Oussala et *al.*, 2006 ; Piochon, 2008 ; Besombes, 2008), (Figures 4-9).

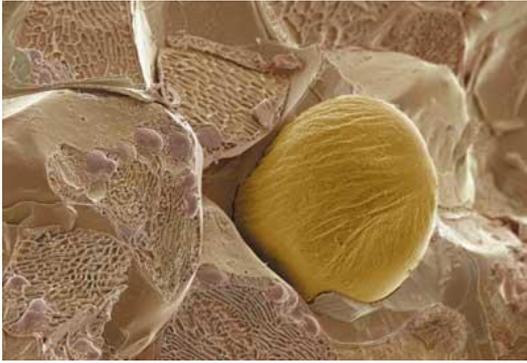


Figure 4:Cellule sécrétrice d'HE dans un rhizome de gingembre *Zingiber Officinale* Roscoe (MEB x 813) (Svoboda et al., 2000)

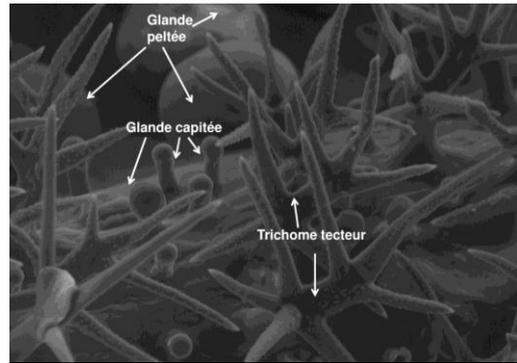


Figure 5 :Trois types de trichomes sur calice de *Lavandula. Angustifolia* (MEB x500 12kV) (Ouibrahim 2015)

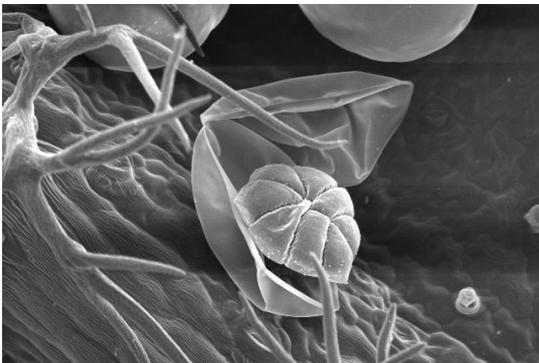


Figure 6 : Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de *lanata* L. (MEB x500 8kV) (Ouibrahim 2015)

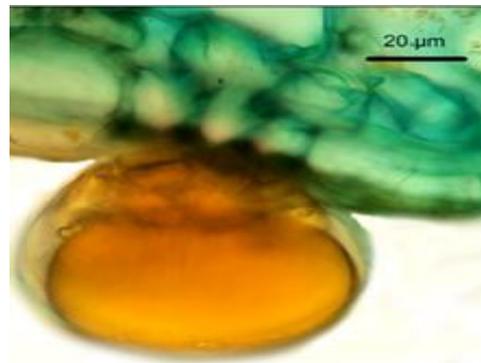


Figure 7 : Poil sécréteur sur une feuille de *Thymus vulgaris*, contenant une goutte d'huile essentielle (Bernard, 2012)

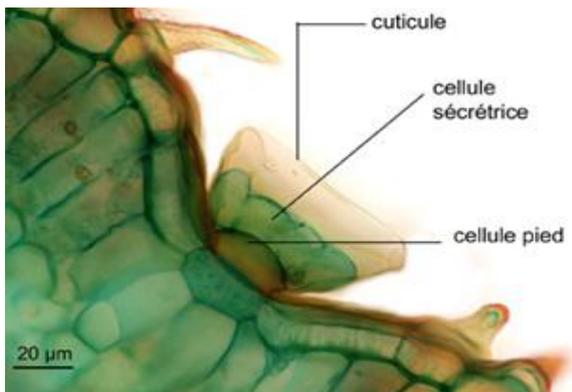


Figure 8 : Cellule sécrétrice ayant libéré son huile essentielle de *T. vulgaris*, (Bernard, 2012)



Figure 9 : Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*O.vulgare* (Svoboda et Hampson 1999)

Les figures 4-9 ci-dessus représentent des exemples des lieux de formation et d'accumulation des huiles essentielles

I -1-3- 3- Caractéristiques et propriétés physicochimiques

A température comprises entre 35°C et 40°C, les huiles essentielles sont liquides constituant ainsi des mélanges complexes de composés organiques (Gamero, 2003). Egalement, elles sont volatiles ce qui les oppose aux huiles grasses dites fixes. Cette volatilité leur confère le caractère odorant (Piochon, 2008). Elles sont liposolubles ainsi que solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool. Elles sont entraînées à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (AFSSAPS 2008, Vassart - Van Snicko, 2012). A l'exception de quelques huiles notamment celles de sassafras, de girofle et de cannelle et une variété de thym, qui se présentent sous différentes couleurs notamment rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym et jaune pour celles de la sauge et du romarin officinal, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation, nécessitant une conservation dans l'obscurité et dans une ambiance humide. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre et opaque est recommandée (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

I-2- Le matériel biologique : *Varroa destructor*

I-2-1- Introduction

Le *Varroa destructor* est l'acarien le plus dévastateur au monde pour les abeilles, *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae) (Anderson et Trueman, 2000), ectoparasite, se nourrit de l'hémolymphe des abeilles mellifères immatures et adultes. Les acariens femelles adultes peuvent vivre en dehors des cellules du couvain et sont également présents sur les faux bourdons, les ouvrières et provoquent une forte mortalité des abeilles, puis un affaiblissement de la colonie et peuvent entraîner l'effondrement de colonies non traitées en quelques années.

I-2- 2- Taxonomie de *V. destructor*

Le genre *Varroa* est actuellement représenté par au moins quatre espèces d'acariens ectoparasites obligatoires. Nous citons :

Varroa jacobsoni Oudemans : décrit pour la première fois comme un acarien ectoparasite naturel de l'abeille *A. cerana* à Java (Oudemans, 1904 ; Anderson et Trueman, 2000) et a une large distribution sur la même abeille en Asie (Koeniger et al., 1981) et *Apis nigrocincta* en Indonésie (Hadisoesilo et Otis, 1998; Anderson et Trueman, 2000). Quant à *Varroa underwoodi*, il a été décrit pour la première fois chez *A. cerana* au Népal (Delfinado-Baker et Aggarwal, 1987), *Varroa rindereri* décrit à partir d'*Apis koschevnikovi* à Bornéo

(De Guzman et Delfinado-Baker, 1996). *V. destructor* a été décrit à la fois chez *A. cerana* (hôte original) et *A. mellifera* (nouvel hôte), classé auparavant comme *V. jacobsoni* (Anderson, 2000; Anderson et Trueman, 2000 ; Zhou *et al.*, 2004). Cette espèce regroupe 6 haplo types infestant *A. cerana*: les haplotypes japonais (Navajas *et al.*, 2010) , thaïlandais, coréen se révélant plus pathogène pour l'abeille avec une propagation mondiale sur *A. mellifera*, (Garrido *et al.*, 2003 ; Muñoz *et al.*, 2008) que l'haplo type japonais/thaïlandais (J1-1) (Strapazzon *et al.*, 2009). , chinois, népalais, vietnamien et sri lankais (Anderson et Trueman, 2000). Deux nouveaux haplotypes de *V. destructor* ont été identifiés en 2004 en Chine sur *A. cerana* : les haplotypes chinois 1 et chinois 2 (Zhou *et al.*, 2004).

Systématique de *V. destructor*

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embranchement : Chelicerata

Classe : Arachnida

Sous-classe : Acari

Super ordre : Parasitiformes (ou Anactinotrichida)

Ordre : Mesostigmata (ou Gamasida)

Sous-ordre : Dermanyssina

Cohorte : Gamasina

Sous-cohorte : Dermanyssiae

Super-famille: Dermanyssoidea

Famille : Varroidae

Sous-famille : Varroinae

Genre: *Varroa*

Espèce: *Varroa destructor*

I-2- 3- Répartition géographique

I-2- 3-1- Dans le monde

Varroa jacobsoni fut signalé sur *A. cerana* la première en 1939, par une apicultrice indochinoise *i* sur *A. cerana*, sans lui accorder une grande importance. Il est origina d'Asie selon Le Conte *et al.*, (2002). bien que *V. jacobsoni* ne constitue pas aujourd'hui une menace pour *A. cerana*, son hôte naturel est *Apis cerana* avec qui, il est en équilibre, (Donzé, 1995). Grâce aux échanges commerciaux enregistrés au cours du siècle dernier précisément durant

les années quarante, *Apis mellifera* s'est vu déplacé d'Asie vers l'Europe et a vu sa propagation sur tout le globe terrestre (Grobov, 1976). Le Varroa aurait été observé la première fois dans le couvain d'*A. mellifera* en Corée dans les années 1950 puis en 1958 au Japon et en Chine (Topolska, 2001), pour envahir ensuite toute l'Europe dans les années 70 (Grobov, 1976) et la France en 1982 (Collins et Pettis 2001). D'après Robaux (1986), des enquêtes ont confirmé le passage du Varroa de l'ex Union Soviétique vers les pays de l'ex Europe de l'Est par le biais des exportations massives d'essaims contaminés puis regagner ceux de l'ex Europe de l'Ouest pour atteindre les rivages méditerranéens par le biais de la Grèce et l'ex Yougoslavie --(Figure 10).

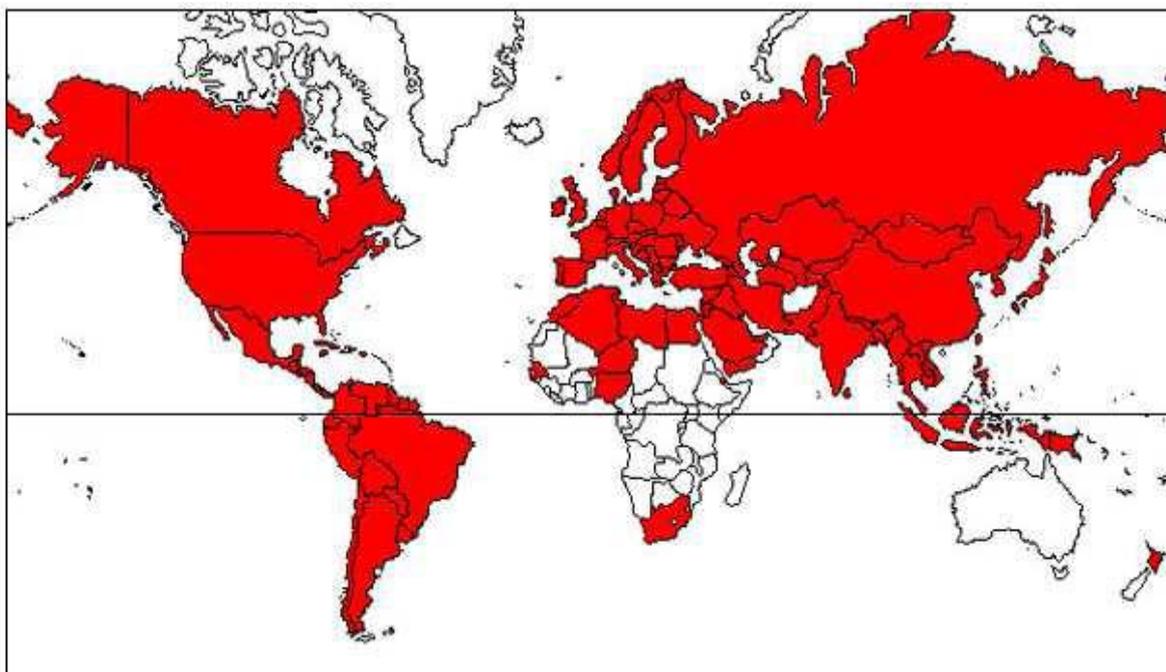


Figure 10. Répartition géographique actuelle de *Varroa destructor*
(Ellis et Zettel Nalen, 2010).

Les zones colorées en rouge indiquent la présence de *V. destructor* sur le territoire.

Aujourd'hui, *V. destructor* est presque cosmopolite, mais il n'a pas encore été identifié en Australie (Noireterre, 2011). De plus, l'abeille européenne n'est pas capable de se débarrasser du varroa qui s'y installe donc définitivement (Odile, 2009).

I-2- 3-2- En Algérie

La varroase a été signalée pour la première fois à l'Est du pays, en juin 1981, dans un rucher appartenant à la coopérative apicole d'Oum Teboul, près d'El Kala. Ensuite, elle s'est

propagée rapidement à travers tout le pays. Elle constituait déjà une menace d'infestation des ruches et la pénétration du varroa devenait alors inévitable. En effet, des informations précises et concordantes sur l'extension de la varroase sur le territoire. (Robaux, 1986 et Belaïd et Doumandji, 2010). Selon le bulletin sanitaire vétérinaire (Anonyme 2010), des cas d'infestation de colonies d'abeilles par la varroase ont été signalés durant les années 2007, 2008 et 2009.

I-2- 4- Morphologie et anatomie du *V. destructor*

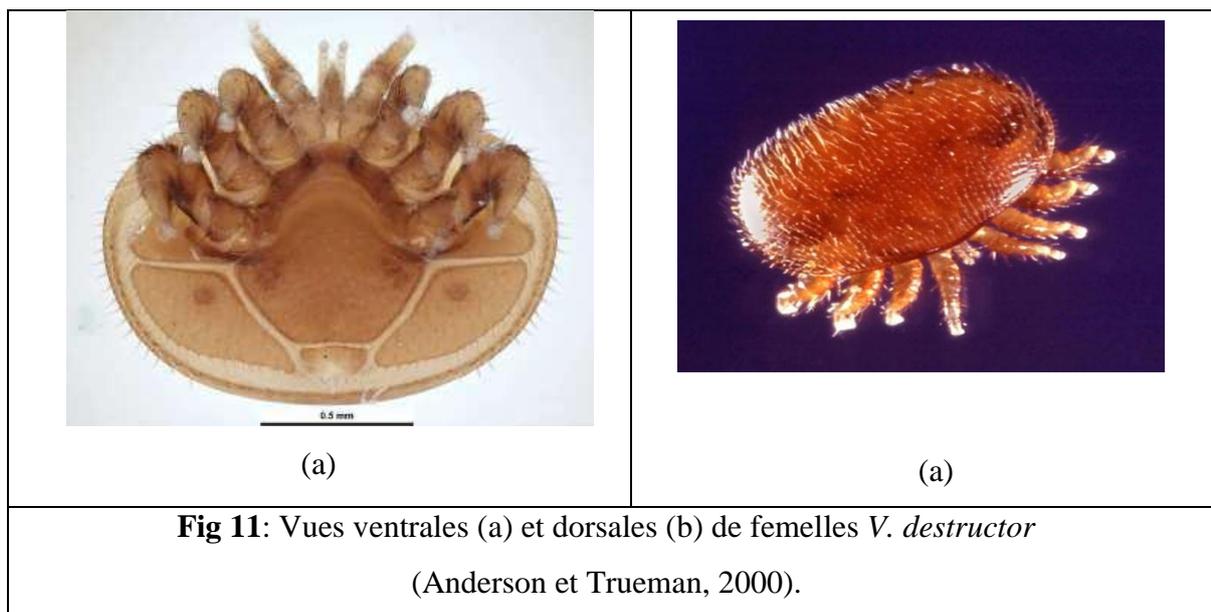
I-2- 4-1- Morphologie et cycle évolutif de la femelle adulte *V. destructor*

Le poids d'une femelle adulte de *V. destructor* est de $325 \mu\text{g} \pm 26 \mu\text{g}$ en phase de phorésie. Ce poids augmente en phase de reproduction d'environ $480 \mu\text{g}$ deux jours après l'operculation de la cellule de couvain (Garrido et al., 2000). Le corps de la femelle adulte *V. destructor* est ellipsoïdal, avec une largeur supérieure à la longueur, déprimé dorso-ventralement. Il a une longueur de $1167,3 \mu\text{m}$ ($\pm 26,8 \mu\text{m}$) et une largeur de $1708,9 \mu\text{m}$ ($\pm 41,2 \mu\text{m}$) (Anderson et Trueman, 2000). Leurs corps incurvés s'insèrent dans les plis abdominaux de l'abeille adulte (James et al., 2013). Le corps, est recouvert de différents types de poils (Dillier et al., 2006) qui pourraient avoir une fonction olfactive (Endris et Baker, 1993).

La femelle adulte *V. destructor* est de couleur brune claire après la dernière mue et évolue par la suite vers le brun foncé en l'espace de 24 à 48 heures (Donzé, 1995) (Figure 11).

Les pattes de la femelle sont courtes et fortes, et montrent des structures spécialisées, pour la fixation à l'hôte (De Ruijter et Kaas, 1983). Les organes génitaux femelles sont répartis en deux systèmes: l'un est formé par un ovaire, un utérus et un vagin, conduisant à l'orifice génital à travers lequel les œufs sont libérés. L'ouverture génitale est située entre la deuxième paire de jambes. La deuxième partie du système génital permet la réception et la maturation du sperme (Alberti et Zeck-Kapp, 1986 ; Rosenkranz et al., 2010).

Le cycle de vie des femelles de *V. destructor* est divisé en phases phorétique sur les abeilles adultes et reproductive dans les cellules de couvain de faux bourdons et des ouvrières (Rosenkranz et al., 2010).



Durant la phase phorétique, seules les femelles fondatrices *V. destructor* sont retrouvées sur les abeilles adultes, se reproduisent dans le couvain d'ouvrières, avec une préférence pour le couvain de faux bourdons d'*A. mellifera* (Donzé et al., 1996 ; Calderone et Kuenen, 2001; Fernandez et Coineau, 2002 et Garrido et Rosenkranz, 2003). La femelle est transportée par une abeille adulte à proximité (quelques millimètres) d'une alvéole susceptible d'être infestée. Dans certains cas, l'acarien quitte son hôte pour se placer sur le bord de l'alvéole, et se dirige rapidement vers le fond dans la gelée larvaire afin d'échapper à la vigilance des nourrices, en se mouvant entre la larve et la paroi de l'alvéole (Ibrahim et al., 2007 et Ifantidis, 1988).

La période phorétique peut durer de 4 à 5 jusqu'à 11 jours lorsque le couvain est présent dans la ruche ou jusqu'à 5 à 6 mois durant l'hiver, lorsqu'aucun couvain n'est présent dans la ruche. Par conséquent, les mites femelles vivant en présence de couvain dans la colonie ont une espérance de vie moyenne de 27 jours, mais en l'absence de couvain, elles peuvent vivre plusieurs mois.

Afin de se reproduire, les acariens phorétiques doivent pénétrer dans les cellules du couvain d'abeille. Ils se mettent à pondre une soixantaine d'heures après operculation (entre 60 à 74 heures) (Mackowiak, 2009). La fécondation de la femelle s'effectue uniquement durant la période d'operculation du couvain, c'est-à-dire, pendant une durée de 270 à 280

heures pour le couvain d'ouvrières, 330 à 360 heures pour le couvain de faux bourdons (Donzé et Guerin, 1994 ; Martin, 1994 et Martin, 1995).

La femelle pond un premier œuf, non fécondé (haploïde) qui donnera un mâle. Les œufs suivants, pondus environ toutes les trente minutes, donneront des femelles (Mackowiak, 2009). La durée du stade œuf est de 20 à 28 heures pour les femelles et 26 à 30 heures pour les œufs mâles. Le nombre d'œufs pondus est de 5 (1 mâle et 4 femelles), très rarement 6 dans le couvain d'ouvrières (Figure 12). En revanche, dans le couvain de faux-bourdons, ce nombre est de 6 œufs (1 mâle et 5 femelles) et très rarement sept (07) (Lucien et *al.*, 2012) (Figure 13). Leur développement peut durer 130 heures pour les femelles et 150 heures pour les mâles. Il y'a cependant une mortalité importante durant ce développement. En moyenne, 1.45 femelles atteindront l'âge adulte dans une cellule ouvrière, contre 2.2 femelles dans une cellule de faux bourdon (Simoneau, 2004). Le comportement d'accouplement est initié par les phéromones sexuelles féminines (Ziegelmann et *al.*, 2008). Les jeunes femelles fraîchement moulées sont nettement plus attractives que les femelles plus âgées ou les deutochrysalis (Fahle et Rosenkranz, 2005), ce qui garantit que le mâle copule avec la femelle la plus jeune jusqu'à la prochaine deutochrysalis.

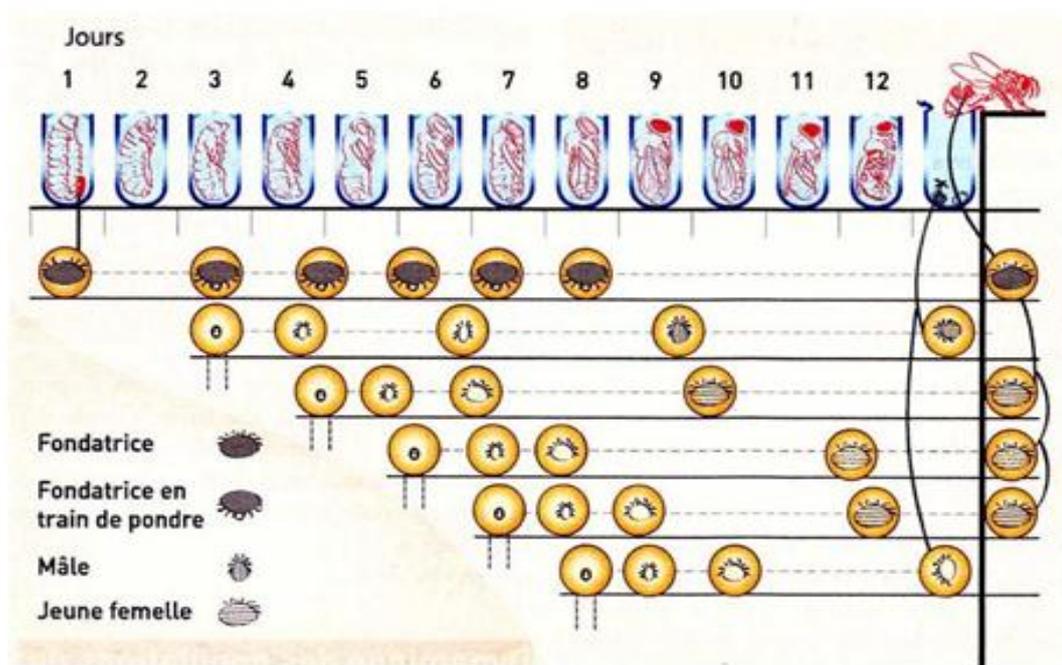


Fig 12 : Ontogénèse de *V. destructor* dans le couvain d'ouvrières (Coineau et Fernandez, 1997).

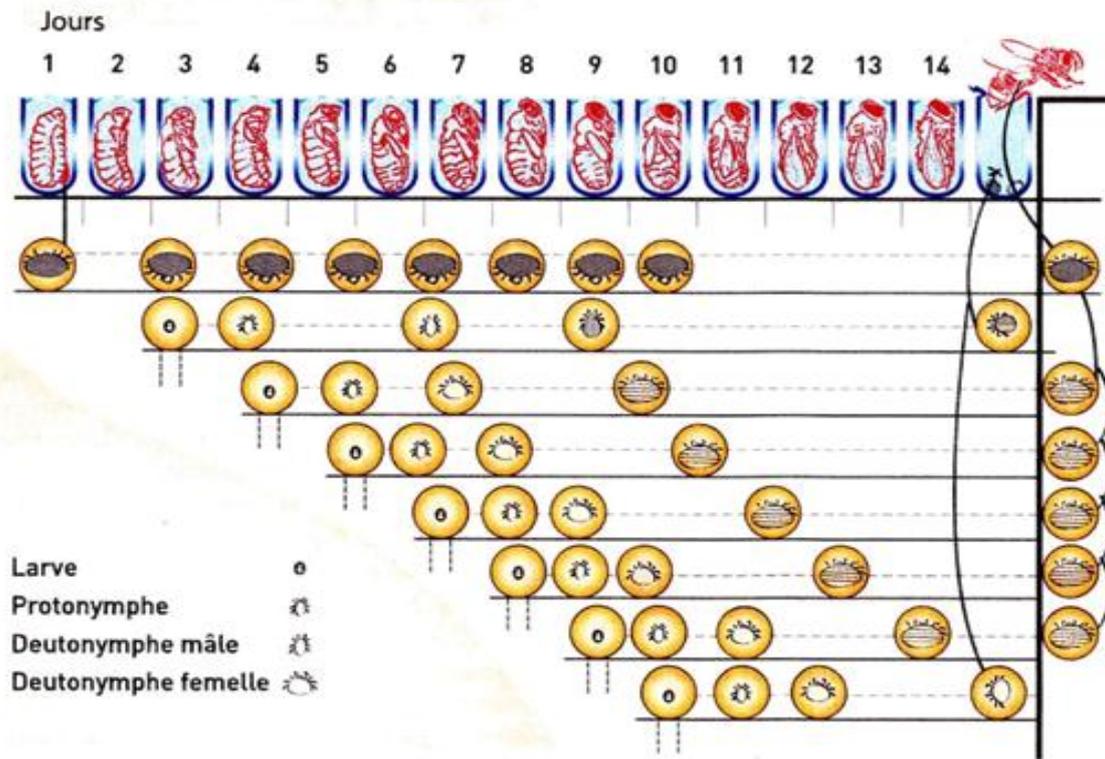


Fig 13 . Ontogénèse de *V.destructor* dans le couvain de faux – bourdon (Coineau et Fernandez, 1997).

Après la mue, les varroas deviennent des deutonymphes. À ce stade, les femelles ont à peu près la forme et la taille de l'adulte mais sont de coloration blanche. Il en est de même pour les deutonymphes mâles qui ressemblent à l'adulte mais sont plus petits et de forme globuleuse par rapport à la femelle (Chen et *al* 2009 et Colin et *al.*, 2001). La femelle mère sortante avec des nouvelles femelles jeunes du varroa, débiterait la ponte 5 à 14 jours après la sortie de la jeune femelle de l'alvéole de naissance (De Ruijter, 1987). Le mâle et les varroas immatures restent quant à eux dans l'alvéole. Une femelle fondatrice peut effectuer plusieurs cycles. Il est estimé que 50% de ces femelles peuvent en effectuer trois, et certaines pourraient faire plus de sept cycles et pondraient jusqu'à 35 œufs selon (Coineau et Fernandez, 2007).

I-2- 4-2- Morphologie et cycle évolutif du male adulte du *V. destructor*

Les mâles sont nettement plus petits que les femelles quelques soient les stades de développement. Selon Ellis et Zettel Nalen, (2010), le corps du mâle *V. destructor* est jaune-vertâtre presque sphérique, en forme de poire (Figure 14) avec des jambes légèrement tannées. Il mesure environ 750 à 980µm de longueur et 700 à 880µm de largeur. Le mâle n'étant pas adapté au parasitisme, il est présent uniquement dans les alvéoles de couvain

operculé où il a été pondu et a évolué en adulte. Il meurt après l'émergence des abeilles de façon inéluctable de déshydratation car il ne possède pas de pièce buccale lui permettant de percer la cuticule des abeilles pour se nourrir. Comme il peut être simplement détritivore ne vivant que pour se reproduire (Seban, 1988). Les membres sont longs et fins. Son corps est peu sclérotisé, excepté au niveau des membres. Le bouclier dorsal est finement couvert de soies (setae), très dense dans la partie postérieure. Il est à souligner qu'aucune différence n'existe, contrairement à la femelle, entre les setae périphériques et centraux comme le rapportent Colin *et al.*, (1999).

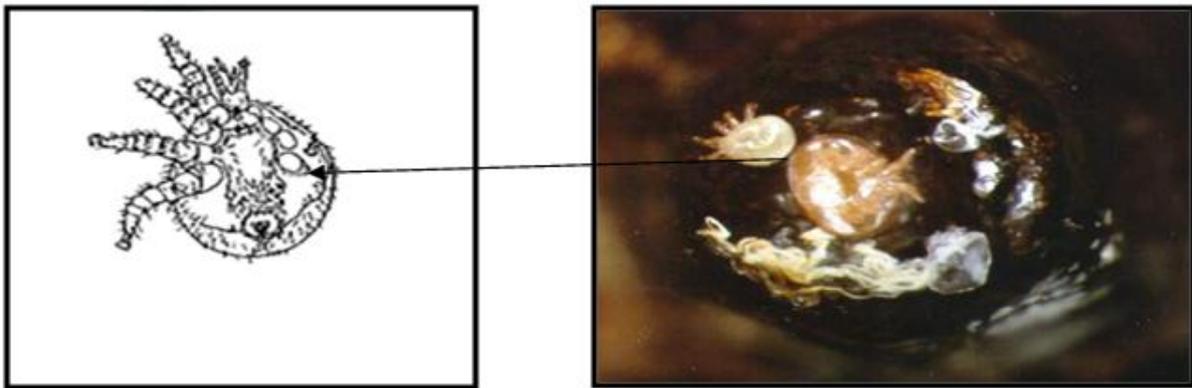


Fig 14: Mâle de *V. destructor* (adulte en vue ventrale) (Donzé, 1995).

I-2- 5- Moyens de lutte contre *V. destructor*

Les apiculteurs utilisent toute une série de moyens de contrôle pour limiter l'impact du parasite sur leurs colonies. Ces moyens se divisent en trois catégories :

I-2- 5-1- Acaricides chimiques

Le contrôle du parasitisme de *V. destructor* a été réalisé dans les années 80 par l'utilisation d'acaricides, ceux-ci devraient présenter à la fois, en terme d'efficacité et de répétabilité (Vandame, 2010) et tolérés par *A. mellifera*, une innocuité pour l'abeille, n'entraînant pas de résistance, ni une innocuité pour le manipulateur et ni une contamination des produits de la ruche (Colin, 2011). Le fluvalinate, l'amitraz et les organophosphates comme le coumaphos sont des substances chimiques à utilisation facile, économique et surtout très efficaces, cependant, leur utilisation pose de nombreux problèmes dont la présence de résidus dans le miel comme l'ont souligné plusieurs auteurs à l'image de Nasr et Wallner, (2003); Martel *et al.*, (2007) ; Lodesani *et al.*, (2008) . Aussi, l'accumulation dans la cire associée au développement de résistances pour le coumaphos a été rapportée par Mathieu et Faucon, (2000) ; Faucon *et al.* , (2005) ; Rodriguez-Dehaibes *et al.*, (2005) ; Sammataro *et al.*,(2005) ; Faucon *et al.*, (2007) Maggi *et al.* (2010) ; Amitraze Bonafos et Colin, (2011).

Ceci a été vérifié par Lodesani, (2004) même si l'utilisation se faisait en rotation et elle ne représenterait qu'une solution à court terme. Les populations d'acariens résistantes pourraient augmenter et se propager avec des conséquences prévisibles (Elzen et *al.*, 2000; Milani et Della Vedova, 2002). De plus, les produits chimiques pourraient présenter des dangers pour la colonie d'abeille elle-même lorsque cette dernière est simultanément exposée à de multiples composés stockés dans la cire selon Lodesani et *al.*, (2008) et Chauzat et *al.*, (2009).

I-2- 5-2- Méthodes biotechniques et mécaniques

Les méthodes biotechniques « Piégeage de *Varroa destructor* dans le couvain de faux-bourçons, dans le couvain d'ouvrières, blocage de la ponte et division de la colonie » et les méthodes mécaniques « plateau grillagé, traitement thermique et saupoudrage » utilisent certaines particularités de la biologie du parasite et/ou de son hôte. Ils représentent la seule approche réellement durable de mise au point de techniques de contrôles du varroa dont les plus utilisées sont :

I-2- 5-2-1- Sélection de souches tolérantes/résistantes à *V. destructor*

Plusieurs programmes de sélection se sont attelés pour l'obtention d'abeilles capables de co-exister avec le *varroa*. A cet effet, Fries et *al.*, (2006) ont proposé la sélection naturelle ou « Bond test » qui consiste en l'arrêt de tout traitement acaricide. Après un déclin au cours des trois premières années, une petite population d'abeilles s'établit et survit sans aucun traitement comme l'ont conclu Fries et *al.*, (2003, 2006).

Plusieurs auteurs ont observé l'évolution des colonies et ils avancent que celle-ci suit le principe suivant: les nouvelles reines sont alors issues des colonies ayant survécu au test en utilisant uniquement les colonies ayant à la fois la meilleure productivité en miel et le moins de *V. destructor* (Rosenkranz et Fries, 2005; Fries et Bommarco, 2007 ; Weller, 2008 et Kefuss et *al.*, 2009). En revanche, les pertes annuelles de colonies restent comparables à celles enregistrées par les apiculteurs utilisant des acaricides (15 %) comme l'ont indiqué Kefuss et *al.*, (2009). Ceci mène à dire que la sélection naturelle pourrait donc conduire à des résultats inattendus concernant la performance de la colonie.

I-2- 5-2-2- Piégeage des varroas dans du couvain mâle

Fries et *al.* (1994) ont remarqué que les femelles de varroa préfèrent pondre dans les cellules du couvain de mâles (6 à 12 fois plus infesté que celui des ouvrières) d'où l'idée de retirer ce couvain au fur et à mesure de son operculation. Calderone, (2005) quant à lui a montré qu'un

retrait une fois par mois (Juin, Juillet, Août et septembre) n'aurait aucune conséquence négative sur le développement et les performances des colonies d'abeilles. Charriere et al. (2003) rajoutent que la pression parasitaire serait nettement réduite et pourrait être divisée par 3.5 en fin d'été. Cette méthode serait donc parfaitement recommandable et adaptable pour la gestion des ruchers aux effectifs réduits. Elle resterait envisageable pour des ruchers plus importants, même si cela nécessite une organisation particulière.

I-2- 5-2-3- Plateau grillagé

Afin de réduire l'infestation de la population de *Varroa*, les ruches sont dotées d'un faux-fonds, où un plateau grillagé, à maillage suffisamment fin pour laisser passer les varroas. En effet, régulièrement des varroas chutent au fond de la ruche et un certain nombre sont vivants et sans blessures. Ils sont incapables de regagner la colonie par leurs propres moyens. Il est à signaler que les parasites peuvent survivre jusqu'à 71 h en présence de cadavres d'abeilles, et seulement 21 h sans nourriture selon De Guzman, (2008). Aussi, la présence du plateau grillagé au fond de la ruche, empêche les ouvrières d'y accéder et évite les ré-infestations par les acariens tombés au fond de la ruche. À cet effet, Harbo et Harris, (2004) ont montré que le pourcentage de la population d'acariens située dans le couvain serait moins élevé dans les ruches à fond grillagé (57%) que dans les ruches classiques (74%). Or, cette population représente l'ensemble des acariens en cours de reproduction. La diminution de ce pourcentage indique que l'ajout d'un plateau grillagé au fond des ruches permet alors de freiner le niveau d'infestation des colonies.

I-2- 5-3- Acaricides biologiques (bactéries, virus, champignons et composés naturels)

En ce qui concerne les bactéries, peu d'entre elles, appartenant aux familles des Bacillaceae et des Micrococcaceae, ont été testées pour le contrôle de l'infestation par *V.destructor*. Toutefois, ces essais restent à l'échelle de laboratoire.

Pour ce qui est des virus, deux ont été identifiés comme d'iridovirus d'acariens issus d'une colonie d'abeilles moribonde au Nord-Est des Etats-Unis. Cependant, ce virus semble létal à la fois pour les varroas que les abeilles (Van Der Geest et al., 2000)

Quant aux champignons entomo-pathogènes (*Metarhiziu manisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecani...*), ils offriraient une perspective de lutte intéressante par pulvérisation selon Shaw et al.,(2002) ou avec des lanières (Kanga et al., 2006) chez *V. destructor* sans atteinte sur les ouvrières (Hamiduzzaman et al., 2015) et sur la fécondité des reines (Kanga et al., 2003).

En résumé, si la lutte biologique avec les bactéries, les virus et les champignons semblerait être une piste de recherche pour lutter contre *Varroa*, elle reste nécessairement risquée car nous ne pourrions jamais contrôler l'évolution naturelle des agents biologiques utilisés, une fois qu'ils seront intégrés aux colonies. Pour contrecarrer cette nouvelle donnée, les composés naturels utilisés sembleraient être une solution de remplacement. Ces produits, à savoir, l'acide formique, l'acide oxalique, l'acide lactique et le thymol représenteraient le cadre des composés naturels utilisés pour le contrôle de la varroase comme l'ont conseillé plusieurs auteurs (Rosenkranz et *al.*, 2010 ; Bogdanov, 2006 ; Barbançon et Monod, 2005 et Giovenazzo et Dubreuil, 2011).

À cet effet, un grand nombre d'études ont été menées sur les applications sous différentes conditions climatiques et apicoles, à savoir, la concentration, la durée, le nombre de traitements et les méthodes d'application (poudrage, alimentation, évaporation, fumigation et pulvérisation). Les résultats obtenus ont été très prometteurs. Floris et *al.*, (2004) ; Bogdanov, (2006) ; Emsen et Dodoglu, (2009) ont trouvé des résidus infimes dans le miel et qui ne présenteraient aucun danger pour la consommation humaine.

Toutefois, il est utile de signaler que ce traitement ne serait efficace qu'en absence de couvain. Aussi, il constituerait souvent un traitement de début d'hiver complémentaire à un traitement de fin d'été selon Charrière.

Chapitre II

Travaux antérieurs sur le genre *Thymus et Origanum*

II -1-Facteurs influençant le rendement et la composition chimiques des HEs

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui en découlent peuvent être très différentes (Garnéro, 1991; Bruneton, 1999 ; Benini, 2007). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques au potentiel génétique de la plante ; ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

Une huile essentielle doit avant tout être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter Toutes Dénominations Trompeuses (Bruneton, 1999).

I I-1-1- Chémotype

Le chémotype ou (chimiotype ou race chimique), introduite par Pierre Franchomme en (1975) a été officialisée au sein de l'Union Européenne en 2006. Elle désigne une entité chimique distincte au sein d'une même espèce (Franchomme, 2003).

C'est une forme de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifique de la plante, à savoir, le pays, le climat, le sol et la période de récolte qui peuvent influencer sa composition. On parle alors d'une huile essentielle chémotypée (Zhiri et Baudoux, 2005 ; Fellah et *al.*, 2006 ; Loziene et Venskutonis, 2006).

Le chimiotype est la signature de l'HE et le principe actif que l'on recherche pour ses effets thérapeutiques. Certaines espèces de plantes, présentent des variations chimiques de leur métabolite secondaire en fonction des influences de leurs écosystèmes (altitude, humidité, ensoleillement, *etc...*), bien que leur morphologie ainsi que leur génétique ne soient pas substantiellement transformées, seul leur phénotype chimique est mouvant (Bonnet-Alves, 2002).

L'exemple le plus marquant est celui de l'espèce de *Thymus algeriensis*, *Thymus vulgaris* et d'*Origanum glandulosum* qui présentent des chémotypes différents (Tableau IV).

II-1- 2- Cycle végétatif

Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal concernant le rendement et la composition chimique en huile essentielle (Garnero, 1991 et Perry et *al.*, 1999). Pour une espèce donnée, la proportion des différents éléments constitutifs de l'huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du développement. Ainsi, des changements importants sont observés au cours de la vie de la plante (Bruneton, 2009).

Hudaib et *al.*, (2002) ont montré l'influence de l'âge ou le stade de développement de la plante sur le rendement et la composition de l'huile. Ainsi, une plante de 2 ans donne un rendement de 0.5% alors que celle de 5 ans en donne 0.15% (les plantes étant cueillies à la même période) (Stefanini et *al.*, 2006 ; Aprotosoiaie et *al.*, 2010).

Tableau IV. Chémotypes des huiles essentielles de *thymus* et d'*Origanum*.

L'espèce	Chémotype	Composants majeurs (%)	Références
<i>Thymus vulgaris</i>	Carvacrol	carvacrol (83.8)	Boukhatem et <i>al.</i> , (2014)
	Thymol	Thymol (65.3)	Asgar et <i>al.</i> , (2014)
		Thymol (52.4)	Mancini et <i>al.</i> , (2015)
<i>Thymus algeriensis</i>	Thymol	Thymol (71)	Chemat et <i>al.</i> , (2012)
	α -Pinene	α -Pinene (27.14)	Giordani et <i>al.</i> , (2008)
	Camphre	Camphre (27,7)	Amarti et <i>al.</i> , (2010)
	1,8-Cineole	1,8-Cineole(15.79)	Zouari et <i>al.</i> , (2012)
	Terpinen-4-ol	Terpinen-4-ol (33.34)	Guesmi et <i>al.</i> , (2014)
<i>Origanum glandulosum</i>	Thymol	Thymol (41.6), γ - Terpinène (27.0) et <i>p</i> -Cymène (17.1)	Bendahou et <i>al.</i> , 2008
	Carvacrol	Carvacrol (63.7)	Ruberto et <i>al.</i> , 2002

Hudaib et *al* (2002) ont montré l'influence de l'âge ou le stade de développement de la plante sur le rendement et la composition de l'huile. Ainsi, une plante de 2 ans donne un rendement de 0.5% alors que celle de 5 ans en donne 0.15% (les plantes étant cueillies à la même période) (Stefanini et *al.*,2006 ; Aprotosoia et *al.*, 2010).

Le stade végétatif a une influence sur la composition quantitative et qualitative des huiles essentielles comme indiqué dans le (Tableau V).

II-1- 3-Organe producteur

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (yang-yang, bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande,..), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma, ...), les fruits (ainsi, badiane,...), le bois (le bois de rose, santal,...) ou les graines (ambrette, muscades,) (Oussala et *al.*, 2006).

Tableau V. Influence de stade végétatif sur le rendement et la composition chimique d'HEs.

Éspece	Stade	Composant majeure (%)	Rendement (%)	Références
<i>Artemisia absinthium</i>	Stade Végétatif	β -pinane (12.29) α -phellandrene (16.4)	0.60	Mohammadi et al., (2015)
	Stade de floraison	β -pinane (12.29), α -phellandrene (16.4)	0.68	
	Après stade de florissant	β -pinane (31.87) , α - phellandrene (9.47)	0.65	
<i>Thymus algeriensis</i>	Stade Végétatif	1,8-Cineole (10.91), α -Pinene (10.49)	2.68	Zouari et al., (2012)
	Stade de floraison	1,8-Cineole (15.79), α -Pinene (9.68)	2.38	
<i>Thymus pallescens</i>	Stade de développement	carvacrol (56.2) p-cymene (7.5)	1.0	Benchabane et al., 2012
	Stade végétatif	carvacrol (65.0) p-cymene (10.2)	2.6	
	Stade de florissant.	carvacrol (52.5) p-cymene (13.5)	4.6	
<i>Origanum glandulosum</i>	Stade végétatif	Thymol (49.5), p- Cymène (18,3) , γ - Terpinène (16.4)	2.7	Bekhechi et al., 2008

II-1- 3-Organe producteur

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (yang-yang, bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma, ...), les fruits (ainsi, badiane,...), le bois (le bois de rose, santal,...) ou les graines (ambrette, muscades,) (Oussala et al., 2006).

Tous les partis de la plante, de mêmes espèces, peuvent renfermer une huile essentielle et sa composition varie selon sa localisation (Faleiro et al., 2003). Ainsi, et à titre d'exemple, les rendements en huiles essentielles de *Thymus pallescens* varient entre (2.8%) et (3.7 %) avec des composants majeurs notamment, au niveau des feuilles et des fleurs respectivement carvacrol (39.0%), p-cymene (17.4%) et carvacrol (48.3%) γ -terpinene (14.1%) respectivement (Hazzit et al., 2013).

I I-1-4-Le patrimoine génétique

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est biosynthèse et donc son profil génétique, c'est la raison pour laquelle, une même espèce peut

présenter plusieurs chémotypes de profils chimique différents, il existe nombreux exemples d'un même phénomène, notamment chez le thym, la sauge (Anton et *al.*, 2005 ; Vila *etal.*, 2008).

I I-1- 5-Tissus sécréteurs

L'huile essentielle est produite et stockée dans les tissus sécréteurs de la plante sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Gonzalez *etal.*, 2007). Elles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante (Degryse et *al.*, 2008).

Les huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules où elles se rassemblent.

Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (Degryse et *al.*, 2008).

Pour Guignard et *al.* (1985), il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires telles que les huiles essentielles dans l'organisme végétal. Par contre pour Garneau (2004), la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe.

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses : poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées) , et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (Bruneton, 1999 ; Ghestem et *al.*,2001) (Figures 15-20).

des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations (Silou, 2003 ; Lucchesi, 2005 ; Abramson et *al.*, 2007 ; Silano et Delbo, 2008).

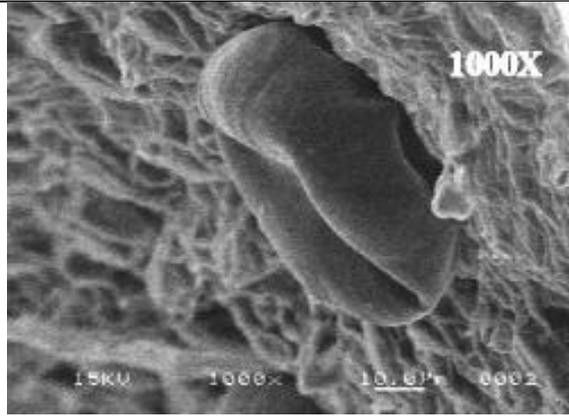


Fig 15: Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille de la menthe des jardins (Marie-Elisabeth,2005)

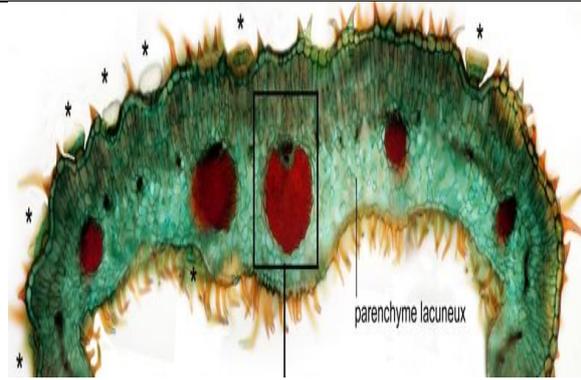


Fig 16 :Poils sécréteurs de la feuille *Thymus vulgaris* (Bernard, 2012)



Fig 17 :Poils sécréteurs et beaucoup de poils tecteurs de la feuille *Thymus vulgaris* (Bernard, 2012)

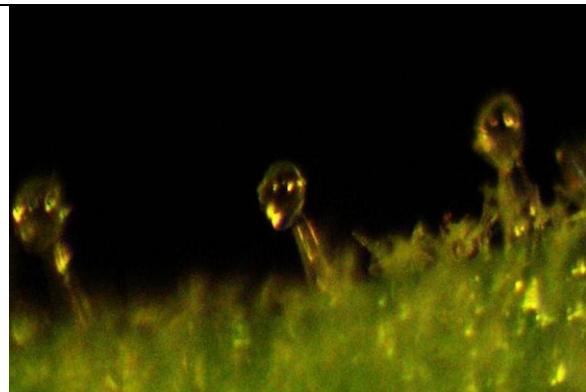


Fig 18 : Glandes capitées sur des feuilles de *Lavendula .multifida* (microscopie optique)

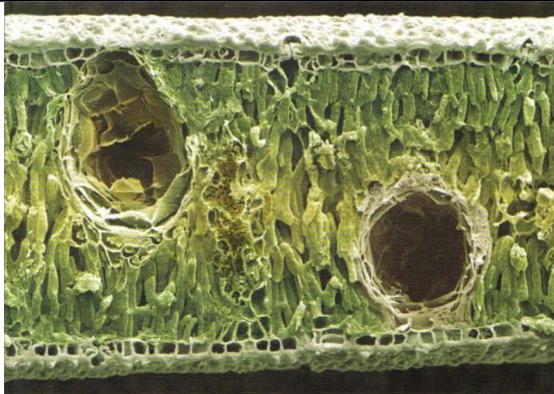


Fig 19:Poches schizogènes d'une feuille d'*Eucalyptus citronné* vues en microscopie électronique à balayage (image colorisée, x204) (Svoboda et al.,2000).

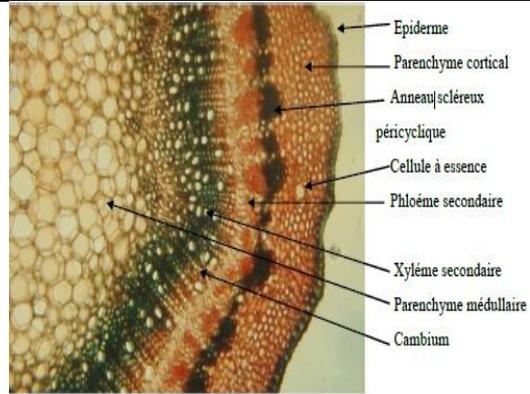


Fig 20 : Coupe histologique d'une tige de Laurier noble (X10). (Ouibrahim 2015)

Fig 15-20 : Représentent des exemples des tissus sécréteurs des huiles essentielles

I I-1- 6-Stade végétatif

Une essence reste modulable en fonction des besoins particuliers de la plante. Sa composition n'est pas statique (Bruneton, 1987; Perry, 1999). Les éventuelles modifications sont conséquentes principalement des conditions météorologiques ainsi que du stade végétatif. En effet, le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle d'une plante comme *Lavandula angustifolia* obtenue par clonage (Sigur N., 1990). En 1989, Edmongor et chwey, ont comparé la composition des huiles essentielles de la camomille obtenues à partir des fleurs récoltées à différents moments après leur repiquage initial (entre 87 et 176 jours). Ainsi, ils ont pu observer, une nette diminution du pourcentage en chamazulèn avec le temps ou une augmentation de l'oxyde de bisabol de type B.

I I-1- 7-Parties sélectionnées

Les cellules productrices d'huiles essentielles peuvent se situer dans différents organes. Il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi, les huiles essentielles extraites à partir des baies, des feuilles et fleurs de piment ne sont pas identiques. En 1987, les travaux de Maffei et Sacco ont montré des différences de composition des huiles essentielles selon les organes (feuilles et fleurs) pour les sous espèces suivantes *Peppermint nohtomorph spallescens Camus* et *rebuscens Camus* .

I I-1- 8-Méthode d'extraction

Des études effectuées par Huang *et al.* (1995) et Gomes *et al.* (2004) avaient montré l'influence de la technique d'extraction sur le rendement et la composition des huiles essentielles (Tableau VI).

La labilité des constituants des HEs explique que la composition du produit obtenu par hydro distillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal Lucchesi (2005).

Toutefois, l'hydro distillation possède des limites. En effet, le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. L'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réarrangements.

Tableau VI :Influence du mode et du temps d'extraction sur le rendement et la composition des huiles essentielles

Méthode d'extraction	Espèce	Temps d'extraction (min)	Rendement %	Composants majeurs %	Références
HD	<i>T. algeriensis</i>	180	0,4	carvacrol (57,7%), p-cymene (17,3%) and γ -terpinene (14,2%)	Hazzit et al., (2009)
	<i>Origanum vulgare ssp glandulosum</i>	90	5	thymol (7,7-43,08%), carvacrol (28,97-63,7%), p-cymène (3,6-13,51%) et γ -terpinène (0,77-13,2%)	Sarri , (2011)
THD	<i>P. pinaster.</i>	180	0,28	β -Caryophyllene 26 Longifolene 12.6	Meullemiestre, (2014)
SFME	<i>T. algeriensis</i>	180	0,89	carvacrol (57,7%), p-cymene (17,3%) and γ -terpinene (14,2%)	Hazzit et al.,(2009)
	<i>T.vulgaris</i>	60	0,42	Thymol (67%) p-cymène (6,2%)	Kutta et al.,(2007)
	<i>Origanum vulgare ssp glandulosum</i>	30	0,3	Thymol (49,5%), γ -terpinene (21%), Para-cymène(18%),	Bekhechi et al., (2008)

La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait Luicita Rivera (2006). C'est ainsi que pour certains végétaux fragiles, comme par exemple les pétales de fleurs, une technique d'extraction plus appropriée est utilisée. Il s'agit de la distillation dite sèche. Cette technique ancestrale, utilisée autrefois par les alchimistes arabes (Lucchesi, 2005 ; Chemat et *al.*, 2004). Avec *Cinnamomun zeylanicum* ou Cannelie de Ceylon, il est possible de produire trois huiles essentielles (Carette, 2000) : à partir de ses feuilles, une huile essentielle riche en eugénol ; à partir de son écorce, une huile essentielle riche en cinnaldéhyde ; et à partir de ses racines une huile essentielle riche en bornéol.

I I-1- 9-Conditions de stockage et de conservation

Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles (Besombes, 2008). Fantino (1990) a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution sur la composition.

Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, il faut éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération microbienne. La distillation immédiate ou un séchage soigneux étant les deux procédés utilisés. D'après Carette (2000), les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître.

I I-1- 10-Ecologie et conditions culturelles

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la plante (Tableau VII) (Barry, 2001 ; Mohammedi, 2006; Marzoukia et *al.*, 2009).

Le tableau ci-dessous montre que quelque soit l'origine de la plante, le thymol est considéré comme le composant majeur oscillant entre 44,7 % et 71%.

Le mode de séchage n'influe ni sur le rendement, ni sur la qualité des huiles essentielles qui restent relativement constants. Les résultats obtenus par Greche et *al.*, (2008) montrent que l'effet du mode de séchage notamment à l'ombre et à l'air libre, sur la variation des rendements des huiles essentielles de l'espèce *Tanacetum annuum* L. *Variet entre* 1.38 ml , 0.8ml et 1ml /100g Ms respectivement durant le 1^{er} , le 2^{eme} et le 7^{eme} jours de séchage à l'air libre.

Tableau VII. Influence de l'origine botanique sur le rendement et la composition d'HE.

Espèce	Origine des plantes	Composants majeurs	Teneur (%)	Rendement %	Références
<i>Thymus vulgaris</i>	India	Thymol, γ terpinene	46,2 14,1	1,6	Shabnum et Wagay, (2011)
	Brazil	Thymol p-Cymene	44,7 18,6	1,1	Porte et Godoy, (2008)
	Italy	Thymol Carvacrol	52,4 7,1	0,068	Mancini et al., (2015).
<i>Thymus algeriensis</i>	Maroc	Camphre α -pinène	27,7 20,5	0,3	Amarti et al. (2010)
	Algeria	Thymol carvacrol	71 4	1,45	Chemmat et al., (2012)
<i>Origanum. hypericifolium</i>	Turquie	Carvacrol p-cymène	64,3 11,7	1,52	Baser, (1995)

Toutefois, le rendement et la composition chimique des huiles essentielle peuvent être affectés sous l'effet des conditions pédoclimatiques et ce, pour la même espèce, le même génotype, le même stade de développement (Bruneton, 1999 ; Bakkali et al., 2008 ; Aprotosoia et al., 2010) ainsi que l'origine géographique de la plante (Mohammedi, 2006 ; Mohamed et al., 2009 ; Marzoukia et al., 2009 ; Olle et Bender, 2010 ; Aprotosoia et al., 2010).

Quant à la photopériode, celle-ci intervient à deux niveaux : l'induction florale et la photosynthèse (thermo photopériode). En effet, l'étude Sud-Africaine , menée par Mosta (2006), a révélé que des récoltes espacées de 8-12 semaines, de géranium, en période ensoleillée, donnaient de bons résultats notamment quantitatifs et qualitatifs.

Yayi-Ladekan et al., (2011), quant à lui, a étudié l'effet de la variation diurne sur la composition chimique et son influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims. Egalement, le rendement de l'huile varie selon la photopériode. Il est abondant vers 7h du matin (1,71%), et décroît progressivement, jusqu'à atteindre son minimum vers 13 h (1,35%). Il reprend, de nouveau, sa valeur maximum (1,78%) quand le soleil est au zénith vers 19 h, au coucher du soleil.

Les précipitations ainsi que leurs fréquences pourraient intervenir sur la sécrétion des huiles essentielles, les plantes extériorisent leur potentiel sécréteur dans les conditions de faibles précipitations. Les zones à pluviométrie inférieures à 200 mm présentent des rendements importants par rapport à celles dont les pluviométries qui y sont supérieures avec

des rendements respectifs 3,66% et 1,70% (tableau VIII). Toutefois, les composants majeurs semblent ne pas être influencés ni par les pluviométries ni pas les diversités des zones bioclimatiques.

Tableau VIII. Influence de la fréquence et de l'intensité des précipitations sur le rendement et la composition d'huile essentielle de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut (Zouari *et al.*, 2012) (Tunisie).

Zone	Zone Bioclimatique	Pluviométrie (mm/ans)	Composants majeurs	(%)	Rendement (%)
Oued Om Ali	Inferieur aride	100-200	1,8-Cineole α -Pinene	7,55 7,41	3,66
Sidi Harrath	Supérieur semi-aride	300-400	1,8-Cineole Camphor	18,02 12,02	1,70
Haydra	Supérieur semi-aride	400-500	1,8-Cineole Camphor	22,07 17,49	1,03

La période de récolte des plantes notamment celle du thym, selon Hudaïb *et al.* (2002) est un paramètre qui permettrait d'obtenir une bonne quantité d'huile avec une bonne qualité. En effet, durant le mois de juillet, le rendement obtenu est de 1,2%. Cette huile se caractérise par une richesse en hydrocarbures mono terpéniques (p-cymène et γ -terpinène) et en mono terpènes phénoliques (thymol et carvacrol). Alors que les plantes cueillies durant le mois de juin, juillet et décembre donnent des rendements de l'ordre de 0,52; 0,50 et 0,08% respectivement (Tableau IX).

Pour certaines espèces cultivées, la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (Barry, 2001 ; Lahlou, 2004 ; Stifanini *et al.*, 2006 ; Benini, 2007 ; Aprotosoia *et al.*, 2010).

Les mauvaises herbes influencent négativement la composition chimique de l'huile (Rao *et al.*, 2002). le désherbage a un effet sur l'augmentation du rendement et pourrait être effectué soit en choisissant une culture intercalaire ou encore un apport de paille. Plusieurs études ont confirmé cette tendance notamment celles de Mosta (2006) ; Rao Br (2002) et Rodolfo *et al.*,(2006).

Tableau IX. Influence de la Période de la récolte sur le rendement et la composition chimique des HEs.

Espèce	Mois	Rendement (%)	Composants majeur	(%)	Références
<i>Thymus algeriensis</i>	Janvier 2013	1,27	Camphor 1,8 cineol	16,7 13,9	Ksouriet <i>al.</i> , (2015)
	Avril 2008	0,3	Camphre α -pinène	27,7 20,5	Amarti et <i>al.</i> , (2010)
	mai 2010	2,96	Thymol α -terpinène	37,78 15,1	Zayyad et <i>al.</i> , (2014)
	Juin 2009	2,2	Borneol Linalool	23,48 8,99	Ait Ouazzou et <i>al.</i> , (2011)
	Juillet 2005	0,5	4-terpineol Camphor	10,6 10,1	Hazzite et <i>al.</i> (2009)
<i>Thymus capitatus</i>	Janvier 2005	1,2	Carvacrol p-cymene	71,3 8,1	Bounatirou et <i>al.</i> , (2007)
	Juillet 2005	2,8	Carvacrol γ -Terpinene	70,6 10,9	
	Aout 2005	3,6	Carvacrol p-cymen	63,0 15,4	

Les besoins en eau d'irrigation montrent l'effet incontournable de cet élément sur la production en huiles essentielles sur *Thymus carmanicus* Jalas étudié par iBahreininejad et *al.*, (2014) sous différents régimes d'eau. Les résultats ont montré qu'une réduction d'apport d'eau de 20% à 80% cause une diminution de la production d'HE jusqu'à 42 %. Influant sur la composition chimique de celle-ci notamment en carvacrol et du γ -terpinene avec des teneurs respectives de 8% et 22%.

L'altitude joue un rôle important sur le rendement en huiles essentielles. En effet, plus on progresse en altitude plus le rendement en huiles essentielles diminue (Hazzit et *al* 2006, 2009 et Zouari et *al.*, 2012).

Le tableau X ci-dessous montre l'effet d'altitude du sol sur le rendement des huiles essentielles.

I I-2-Activité biologique des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. Les vertus des

huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et antioxydantes.....

Tableau X. Influence de l'altitude sur le rendement et la composition des HEs.

Wilaya	Localités	Altitudes	Composants majeurs	Rendement (%)	Référence
<i>Thymus palleescens</i>					
Relizaine	Oued Rhiou	72 m	Thymol 49,3%, carvacrol 9,0%.	6,2	Hazzit et <i>al.</i> , (2006), (2009)
Bouira	Kadiria	180 m	Carvacrole 44,4%, p-cymene 12,0%.	3,3	
Media	Tablat	470 m	Thymol 15%, carvacrol 6,8%,	3,7	
M'sila	Boussaada	574 m	Carvacrol 46,9%, p-cymene 10,0%	2,8	
<i>Thymus algeriensis</i>					
Tunisie Guafsa	Ayaycha	192 m	<i>Cis</i> -Sabinene hydrate 12,95% camphor 11,72%	2,25	Zouari et <i>al.</i> , (2012)
Tunisie Kasserine	Djebel Slata	670 m	1,8-Cineole 18,46%, camphor 15,69%	1,68	
Tunisie Thala	Dachra	693 m	1,8-Cineole 14,73%, camphor 14,37%	1,35	
Tunisie Kasserine	Haydra	800 m	Camphor 13,64%, 1,8-Cineole 12,45%	1,03	
Blida	Chrea	1500 m	Terpinyl acetate 18,0% et nerolidol 12,6%	0,7	Hazzit et <i>al.</i> , (2009)

I I-2-1-Activité antimicrobienne

L'efficacité clinique de la plupart des antimicrobiens commercialisés est jugée menacée par l'émergence rapide des pathogènes multi résistantes qui accroissent la nécessité de trouver des solutions (Aboubakr et *al.*, 2016). Le succès connu de la médecine traditionnelle a guidé la recherche de nouveaux agents chimio thérapeutiques alternatifs pour éliminer les infections causées par des microbes pharmaco-résistants et à réduire les méfaits causés par les antibiotiques (Liu Zh et Nakano 1996 ; Baydar et *al.*, 2004 ; Udomsilp et *al.*, 2009 ; Souza et *al.*, 2009).

Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antibactériennes dues principalement à la richesse au thymol connue pour son efficacité contre les agents

microbiens (Silva *et al.*, 2010) (Tableau XI). Elles sont employées dans les aliments pour prolonger leur durée de conservation (Gachkar *et al.*, 2007 ; Ghasemi *et al.*, 2010) mais le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles diminue en raison de leur volatilité et leur lipophilicité (Hadizadeh *et al.*, 2009 ; Foda *et al.*, 2010).

L'huile essentielle de *T. algeriensis* est moins active comparée à l'essence de *T. ciliatus* (Amarti *et al.*, 2010). Cette faible activité peut être due à la présence dans l'huile de *T. algeriensis* de l' α -pinène (20,5 %), du β -pinène (8,02 %) et du limonène (4,85 %) reconnus pour leur faible activité antibactérienne (Chalchat *et al.*, 2000).

Tableau XI : CMI et CMB de quelques huiles essentielles contre *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S.aureus*.

Espèces	Concentration	<i>P aeruginosa</i>	<i>E coli</i>	<i>S aureus</i>	Références
<i>Juniperus phoenicea</i>	CMI mg/ml	0,22	0,02	0,10	Derwich <i>et al.</i> , (2010)
	CMB μ g/mL	/	/	/	
<i>Menthapulegium</i>	CMI μ g/mL	30,0	1,0	1	Ait Ouazzo <i>et al.</i> , (2012)
	CMB μ g/mL	30,0	5,0	30,0	
<i>Juniperu sphoenicea</i>	CMI μ g/mL	30,0	30,0	0,5	
	CMB μ g/mL	30,0	30,0	10	
<i>Cyperus longus</i>	CMI μ g/mL	30,0	30,0	0,5	Giwali <i>et al.</i> , (2013)
	CMB μ g/mL	30,0	30,0	30	
<i>Thymus algeriensis</i>	CMI μ g/mL	0,003	0,002	0,002	
	CMB μ g/mL	0,05	0,004	0,003	

CMI : concentration minimale inhibitrice, CMB: concentration minimale bactéricide

Zayyad *et al.*, (2014), Heni *et al.*, (2015) ont montré la haute sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *Listeriose monocytogenes*, *Erwinia chrysanthemi* et *Bacillus subtilis* vis-à-vis de l'huile de thym, cette sensibilité est liée à la présence des phénols qui possèdent un coefficient antibactérien plus élevé, suivi par les monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol) (Belkou, 2005).

I I-2-2-Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles pourraient être employées comme agents de protection contre les champignons Juárez *et al.*, (2016) et les micro-organismes envahissant la denrée alimentaire (Lis- Balchin., 2002). Les plus étudiées dans la littérature, pour leurs propriétés antifongiques, appartiennent à la famille des *lamiacées* comme l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (3,71 μ g/ml) contre une espèce de levure *Candida albicans* (Giordani *et al.*, 2008), *Lavandula stoechas* (1,6 μ g/ml) a été testée contre *Rhizopus stolonifer* et *Mucor sp* (Mohammedi et Atik, 2011), *R. officinalis* avec une

concentration minimale inhibitrice (15,75 mg/ml) contre *T. schimperii* Awol (Mekonnen et al., 2016).

Touaibia et al, (2014), ont évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L, contre les champignons phytopathogènes tels que *Aspergillus niger* et *Penicillium sp*, Les résultats obtenus ont montré un effet inhibiteur prometteur contre les deux pathogènes testés avec un diamètre d'inhibition de $14,33 \pm 0,2$ à $20 \mu\text{l}$.

El Ajjouri et al, (2010) ont étudié l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss, & Reut, et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth, En effet, elles ont exercé une très forte activité antifongique sur deux souches provoquent la pourriture du bois *Coniophora puteana* et *Gloeophyllum trabeum* à partir d'une très faible concentration de l'ordre de 0,0002 v/v, La même constatation a été rapportée par Giordani et al., (2008) qui ont montré que parmi les huiles de sept plantes aromatiques et médicinales différentes de l'Algérie, l'essence de *T. algeriensis* a présenté la plus faible activité antifongique contre *Candida albicans*,

II-2-3-Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme étant toute substance, à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, pouvant retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Beirão et Bernardo-Gil, 2006 ; Alais et al., 2008 ; Rashid et al., 2010), Pour supprimer ou ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables : tenter de réduire les facteurs favorables à cette oxydation et/ou trouver un réactif qui ralentit l'oxydation : c'est le rôle de l'antioxydant Jeantet et al.,(2006), La capacité antioxydante des huiles essentielles est étroitement liée à tout le contenu phénol (Yanishlieva et al., 1999),

Plusieurs auteurs rapportent que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que certains antioxydants synthétiques (Pamphile et al., 2009 ; Dongmo et al., 2010 ; Hussain et al., 2010 ; Dashti et al., 2015), Les effets antioxydants des huiles essentielles et des extraits des plantes sont dus principalement à la présence de groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (Hussain, 2009 ; Pamphile et al., 2009 ; Dongmo et al., 2010),

Les travaux de Amarti et al., (2011) ont montré que les huiles essentielles de *Thymus capitatus*, *thymus ciliatus* et *Thymus bleicherianus* témoignent d'un pouvoir antioxydant in vitro très intéressant, alors que celle de *T. algeriensis* possède un faible effet antioxydant, Cette forte capacité de réduction des radicaux libres des trois essences peut être due à leurs

profils chimiques riches en phénols (thymol et carvacrol), Cependant la faible activité antioxydante de l'essence de *T. algeriensis* peut être expliquée par la teneur à peine détectable en thymol (0,15%) et l'absence du carvacrol (Sokmen et *al.*, 2004), En effet ces deux derniers constituants phénoliques ont déjà prouvé leur fort pouvoir antioxydant (Tepe et *al.*, 2007),

*Thymus vulgaris*L,se situe parmi les fines herbes séchées contenant les plus grandes capacités antioxydants, Différents composés du thym lui permettent de posséder un tel statut, comme les phénols (thymol et carvacrol), les flavonoides, l'acide rosmarinique, l'acide caféique et la vitamine E (Kulišić et *al.*, 2006), Ces constituants inhibent la peroxydation lipidique induite *in vitro* au niveau des mitochondries et des microsomes, L'huile essentielle de *T.vulgaris* témoigne d'une grande activité antioxydant *in vitro* (Bouhdid et *al.*, 2006),

I I-2-4-Activité insecticide

L'efficacité des huiles essentielles en tant qu'insecticides est la préoccupation de nombreux chercheurs (Rajgovind, 2016 ; Song, 2016), Les travaux effectués concourent à mettre en évidence les différents éléments pouvant accroître l'action des huiles essentielles sur les ravageurs, Ces études constituent une étape indispensable pour le développement de l'utilisation des huiles essentielles dans la lutte contre les ravageurs de grains, Pour ces auteurs, les huiles essentielles sont des substances fumigènes dotées de réelles potentialités insecticides à valoriser,

Popović et *al.*, (2013) ont montré l'activité insecticide de carvacrol présent dans les huiles essentielles (1,14 %) de *Calamintha glandulosa*, *Montana Satureja* et *Teucrium polium* testés contre *Tribolium castaneum*, avec un taux de mortalité très élevé (56,67 %) après 24 h, L'application de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* à une concentration de 15%, que ce soit parcontact ou ingestion ou inhalation montre l'effet insecticide sur *Rhizopertha dominica* ravageur de denrée céréalière, avec un taux de mortalité enregistré de 87-100% (Boutekedjiret et *al.*, 2004),

Dans le domaine agro-phytosanitaire, plusieurs travaux ont fait référence à l'utilisation des huiles essentielles pour la protection des cultures contre les ravageurs des cultures et en particulier contre les ravageurs des denrées stockées (Ngamo et Hance, 2007),

I I-2-5-Activité larvicide

Les femelles de nombreuses espèces de moustiques se nourrissent de sang de vertébrés vivants, En se nourrissant de sang, certains d'entre elles transmettent des maladies extrêmement nuisibles, telles que la fièvre jaune, la Blue tangué, la fièvre aphteuse (Heng,

2008), Les larves de moustiques et de chrysalides sont actuellement contrôlées par l'utilisation d'insecticides chimiques de synthèse , Leur utilisation répétée a perturbé les systèmes de contrôle biologique naturelle, résultant parfois au développement généralisé de résistance ainsi que des effets indésirables sur les organismes non cibles, les résidus toxiques dans les aliments, la sécurité des travailleurs, et le coût élevé de l'approvisionnement (Sman, 2006 ;Murugan et *al.*, 2014), Ces problèmes ont justifié la nécessité de développer des stratégies alternatives à l'aide de produits écologiques, De ce point de vue, des pesticides d'origine végétale, notamment les huiles essentielles, sont prometteurs car ils sont efficaces, sans effet négatif sur l'environnement et facilement biodégradables et souvent peu onéreuses, De nombreuses huiles essentielles peuvent exercer l'activité toxique contre les espèces de moustiques (Lva et *al.*, 2010 ; Kweka, 2011 ; Liu et *al.*, 2013 ;Sayah et *al.*,2014 ; El-Akhal et *al.*, 2015).

Toutefois, des études ont montré qu'il y a un rapport entre la dose de l'huile essentielle et ses composés contre les moustiques (Tableau XII),

Tableau XII : Concentrations létales des huiles essentielles contre quelques espèces de moustiques (larve),

Plante	LC 50 (ppm)	LC 90 (ppm)	Espèces de moustiques	Références
<i>Acacia nilotica</i>	55,72	194,58	<i>Anopheles stephensi</i>	Saktivadivel et Daniel (2008)
<i>Thymus capitatus</i>	49,0		<i>Cx, Pipiens</i>	Mansour et <i>al.</i> ,(2000)
<i>Ocimum basilicum</i>	8,29 - 87,68		<i>Stephensi</i> <i>Cx,quinque fasciatus</i>	Maurya et <i>al.</i> , (2009)
<i>Origanum syriacum</i>	36 mg/ l après 24 h,		<i>Cx,Pipiens molestus</i>	Traboulsi et <i>al.</i> (2002)
<i>Lavandula stoechas</i>	89 mg /l après 24h,			
<i>Thymus vulgaris</i>	103	178	<i>Culex pipiens</i>	El-Akhal et <i>al.</i> , (2015)
<i>Citrus aurantium</i>	35	70	<i>culex pipiens</i>	Sayah et <i>al.</i> , (2014)
<i>Citrus sinensis</i>	120	64		
<i>Pistacia lentiscus</i>	160	62		

I I-2-6-Activité acaricide (cas de *Varroa destructor*)

L'extension des acariens incite à la réalisation de nombreux programmes et travaux de recherches, la majorité d'entre eux se sont focalisés sur les aspects de lutte par les moyens chimiques essentiellement, ces produits chimiques restantes, ont des effets néfastes sur l'environnement (Asgar et *al.*, 2014).L'acarien peut être trouvé sur les abeilles adultes, sur le

couvain, dans les débris de la ruche et dans les denrées alimentaires, Il peut nuire à la fois et directement, aux colonies et aux abeilles en endommageant les ouvrières individuelles durant le stade nymphe (Amdam 2001).

Les résultats d'efficacité des huiles essentielle contre *Varroa destructor* durant la période hivernale sont respectivement de 76,7 % (*Laurus, nobilis, L.*), 76,4 % (*Lavandula, officinalis*) et 74,5 % (*Foeniculum, vulgare*), Selon Kutukoğlu et al., (2012), l'efficacité des traitement par les huiles au printemps, était 83,8 % pour *Lavandula, officinalis*, 78,8 % pour *Foeniculum, vulgare* et 70,8 % pour *Laurus,nobilis*.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenues par Mahmood et al., (2014) en utilisant des huiles de clou de girofle et de tabac (11,8%), suivi par l'ail (8,9%), l'olive (8%) et l'huile neem (7,8%), à des concentrations de 5 %, 10 % et 15 % respectivement.

Le *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000) est un acarien ectoparasite, hémophagien de l'abeille asiatique *Apis cerana* qui, au milieu du 20^{ème} siècle, est passé sur un nouvel hôte en l'occurrence l'abeille domestique *A. mellifera* (Oldroyd, 1999), Il demeure la plus grande menace pour l'apiculture (Rosenkranz et al., 2009), Cet acarien est l'agent causal de la varroase, Il s'est répandu à travers le monde en un très court laps de temps, Mis à part l'Australie, il est devenu, maintenant, difficile de trouver une colonie d'abeilles indemne de varroa "

Il est donc essentiel de comprendre l'acarien varroa et les options disponibles pour le combattre.

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre III :

Matériel et méthodes

Le présent travail contribue à l'élaboration d'une carte de répartition des genres *Thymus* (*Thymus algeriensis* Boiss, & Reut, *Thymus fantanesii* et *Thymus ciliatus*) et *d'Origanum* (*O. vulgare*) appartenant à la famille des lamiacées à travers la wilaya de Ain Defla, et la mise en évidence des variations du rendement et de la composition de l'huile extraite par la méthode d'hydrodistillation des diverses espèces, Les plantes sont récoltées du massif Dahra Zaccar et l'Ouarsenis durant les années 2012, 2013, 2014 et 2015, Les objectifs fixés sont résumés ci-après :

- Elaboration d'une carte de répartition du genre *Thymus et Origanum* à travers la wilaya d'Ain Defla
- Extraction et récupération des HEs de *Thymus et Origanum* par hydrodistillation,
- La caractérisation physicochimique des huiles essentielles extraites du genre *Thymus et Origanum* par les techniques GC et GC/MS
- L'évaluation de l'activité acaricide de l'huile essentielle du thym et d'origan

L'extraction et la caractérisation physicochimique des huiles essentielles du thym et de l'origan a été effectuée au niveau du laboratoire de Biochimie et de Microbiologie de l'Université Djillali Bounaama de Khemis Miliana, L'analyse des huiles essentielles a été réalisée au niveau de l'Unité de Chimie Générale et Organique à Gembloux Agro-Bio Tech de l'Université de Liège (Belgique),

L'activité acaricide des huiles essentielles extraites du thym et de l'origan sur l'acarien *Varroa destructor* a été effectuée sur un rucher appartenant à un privé au niveau de la Wilaya de Ain Defla, Le site d'expérimentation est situé au lieu dit Hay Hadj Sadok², aux pieds de djebel Doui, Ce site est caractérisé par la présence d'un verger constitué d'orangers, de néfliers, pommiers, poiriers, abricotiers et une végétation spontanée constituée de nombreuses plantes mellifères et pollinifères, notamment la moutarde des champs, la vipérine, la bourrache, le souci des champs et le lupin, Le rucher est composé de plus de 80 ruches situées dans un endroit facilement accessible,

III-1-Matériel

III-1- 1-Matériel Biologique

a- Apis mellifica intermissa Buttel – Reepen

Apis mellifica intermissa, abeille tellienne, est d'origine maghrébine mais elle est plus répandue en Algérie (fig, 21), Elle est très agressive lors des manipulations, très nerveuse, très essaimeuse, cependant elle est très féconde, très bonne récolteuse de pollen et de propolis et très sensible aux maladies du couvain (Adam, 1964), La valeur économique de cette race est médiocre, cette abeille est très précieuse car c'est une race primaire c'est à dire qu'elle peut servir pour les croisements, c'est à cet effet qu'elle possède un groupe de sous - races ou variétés qui s'étend à travers le Nord Est de l'Europe et la moitié Nord de l'Asie jusqu'à l'océan pacifique,



Fig. 21 : *Apis mellifera intermissa*

b- Varroa destructor

Varroa destructor (Anderson et Trueman, 2000) est un acarien ectoparasite, hémophagien de l'abeille domestique *A. mellifera* (Oldroyd, 1999), Il demeure la plus grande menace pour l'apiculture (Rosenkranz et *al.*,2009), Cet acarien est l'agent causal de la varroase, Il s'est répandu à travers le monde en un très court laps de temps, Il est devenu, maintenant, difficile de trouver une colonie d'abeilles indemne de varroa (fig, 22)



Fig. 22 : Varroa adulte femelle (Anderson et Trueman, 2000).

III-1- 2-Matériel végétal

Les parties aériennes (feuilles et fleurs) d'*O. vulgare* et de *T.algeriensis* ont été récoltées durant l'année (2011-2012) à raison d'une récolte/mois, le matin à 9h, pour l'extraction des huiles essentielles, Le matériel végétal recueilli est étalée, séché, à l'air libre, pendant huit jours permettant de garantir une bonne conservation de ses paramètres physicochimiques d'une part, et d'autre part d'empêcher la prolifération bactérienne (Wichtl et Anton, 2003; Nicolas et Billaud, 2006)

Les parties aériennes faisant objet d'expérimentations sont conservées dans des sacs en papier, Un spécimen a été déposé à l'Herbarium du Département des sciences Agronomique de l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana (fig. 23 et 24),

Une fiche d'inventaire a été établie comportant les données suivantes : l'espèce, la commune, la localité (le lieu-dit), le type de sol et la quantité récoltable annuellement, A l'issue des inventaires que nous avons effectué à travers la wilaya de Ain Defla durant l'année 2011-2012, nous avons établi des tableaux résumant les données récapitulatives et des cartes de répartition des deux genres :*Thymus* et *Origanum*,

L'identification botanique a été faite sur la base d'un spécimen d'herbier réalisé par M^f Belouad , M^f Hazzit et son équipe de recherche du département de botanique de l'ENSA El Harrach, Alger,

	
<p>Fig. 23 : <i>T.algeriensis</i> Boiss, & Reut</p>	<p>Fig. 24 : <i>O,vulgare</i> L,</p>

III-3- 3-Matériel apicole

Le matériel apicole utilisé pour le diagnostic du varroa (la méthode biologique “ pose des langes ” ou “ couvre-fond ” (fig 25) composé de :

a. Ruches

Elles sont au nombre de soixante, de type Langstroth composées d’un plateau, Le corps de la ruche contient 10 cadres couverts avec un nourrisseur et un toit.

b. Outils apicoles

L’enfumoir : l’utilisation de l’enfumoir réduit l’agressivité des abeilles.

Le lève cadre : il sert à ouvrir facilement les ruches et à décoller les nourrisseurs et les cadres propolisés.

La brosse : elle est utilisée pour nettoyer le cadre de toutes abeilles.

La combinaison : elle est utilisée pour éviter les piqûres des abeilles.

III-3- 4-Matériel utilisé pour le diagnostic et la mesure du couvain

a- Les langes

Ce sont des lames en bois qui recouvrent la surface du plancher de la ruche, leur longueur est supérieure à celle du plancher de la ruche de quelques cm, La largeur est inférieure de 0,5 cm par rapport à celle du plancher,

b- Le film plastique

c- Il couvre le lange qui est fixée par des punaises, sur laquelle est étalée la matière grasse (vaseline), servant à récupérer les varroas une fois éliminés à la suite des traitements appliqués par ingestion.

d- La vaseline

Elle est nécessaire pour enduire les langes sur lesquels tomberont et s'englueront les parasites ; pour cela, nous avons utilisé la vaseline de couleur claire, qu'on étale à l'aide d'un morceau de polystyrène,

e- Les grilles en plastique

Elles ont les mêmes dimensions que les langes et dont les mailles ont 3 et 4 mm de diamètre, Elles servent à retenir les abeilles et les gros débris de la ruche, afin de faciliter le comptage des varroas sur les langes,

f- Les cadres en bois

Ils sont sous forme de U et sont placés sur les plateaux de manière à agrandir l'écart entre le plateau et le corps de la ruche et faciliter ainsi la pose et le retrait des langes,

g- La règle graduée

Elle sert à mesurer la longueur et la largeur du couvain pour calculer sa surface.

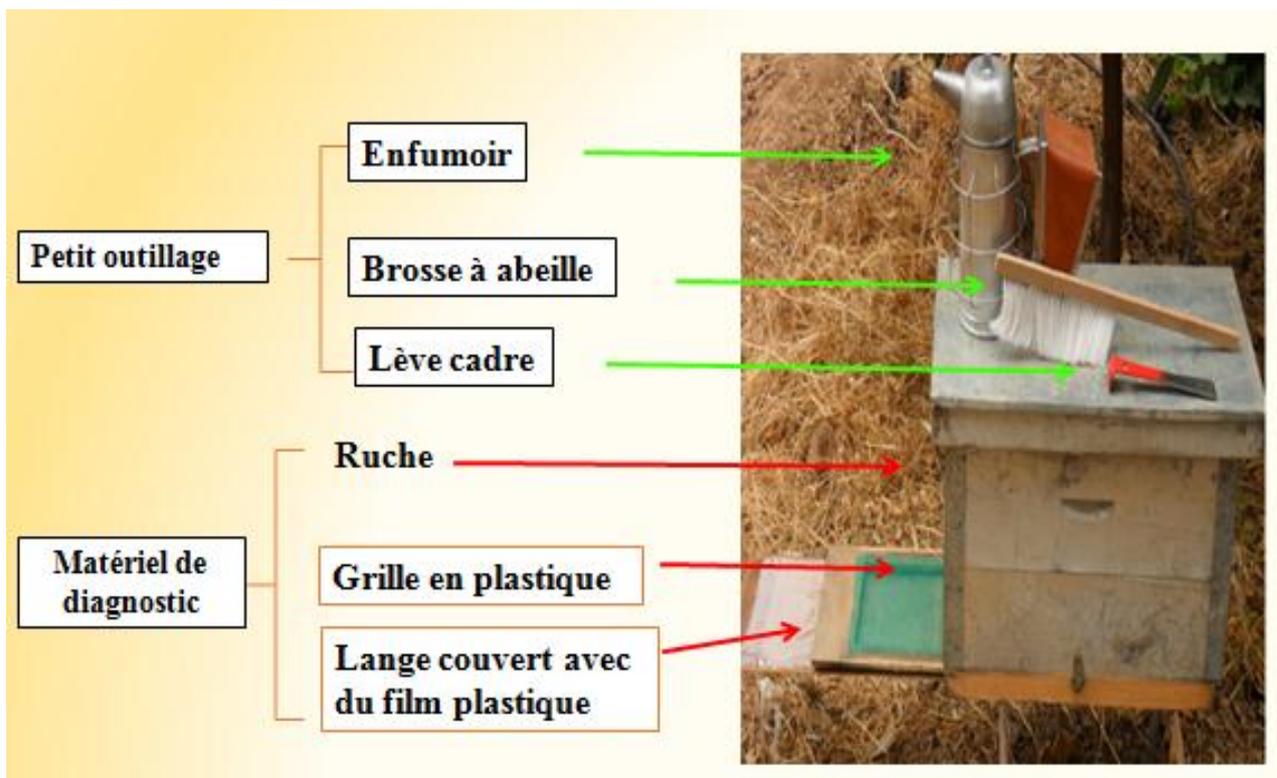


Fig. 25 : Outils apicoles utilisés dans la méthode biologique “ pose des langes ” ou “ couvre-fond”

III-2-Méthodes

III-2-1-Détermination de la matière sèche

La matière sèche du thym et l'origan , est déterminée par le procédé de dessiccation de 1gr de la matière végétale séché à l'air libre (Linden et Lorient, 1994), à une température de $105^{\circ}\pm 2$ C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique pendant 24h (AOAC, 1990),

$$MS\% = (\text{Pds Sec}/\text{Pds Frais}) \times 100$$

Pds Frais : poids du matériel végétal séché à l'air libre,

Pds Sec : poids du matériel végétal après passage à l'étuve,

MS % : Matière sèche,

III-2-2-Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Le procédé d'extraction utilisé est l'hydrodistillation en utilisant l'appareil de type Clevenger (fig, 26), La durée d'extraction est cent vingt minutes.

Soixante (60 g) des parties aériennes des plantes, du genre *Thymus* et *Origanum* récoltées en mois de juin et juillet respectivement et séchées à l'air libre pendant huit jours a une température de (38°C), sont utilisés, 500 ml d'eau distillée sont ajoutés, Toutes les expériences sont réalisées en trois répétitions chacune, Les résultats sont exprimés par rapport au poids sec de la matière végétale utilisée.

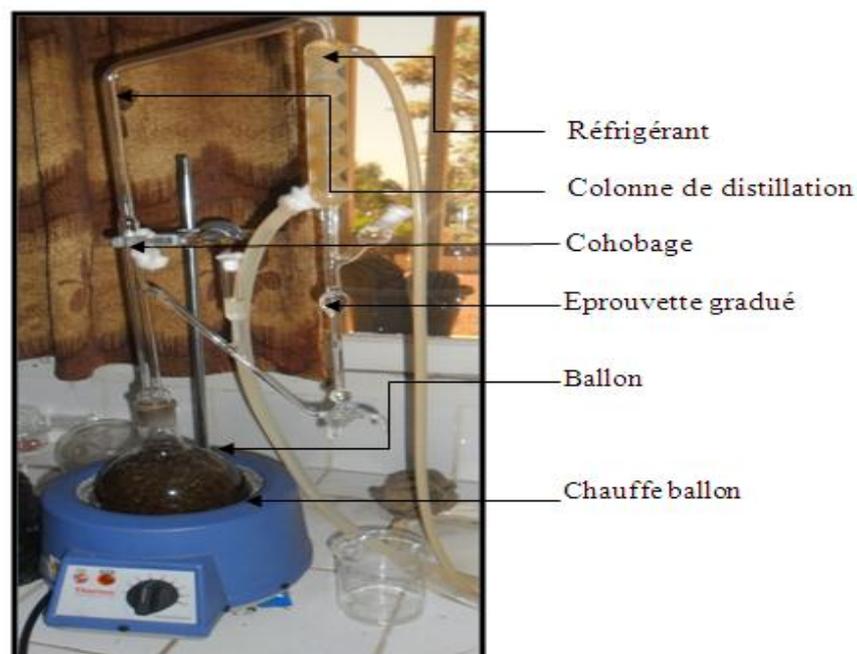


Figure 26 : Hydrodistillateur de type Clevenger

Lorsque l'eau arrive à ébullition, l'éclatement des cellules permet la sortie de l'essence aromatique, Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le condenseur, Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur, L'huile essentielle, de faible densité surnage en surface de l'eau. L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation et mise dans des flacons étiquetés et opaques puis stockée à 4°C dans un réfrigérateur afin de les analysés.

III-2-2-1-Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR,1986), Le rendement (R_{HE}) est exprimé en pourcentage, et est donné par la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = (M_{HE} / M_S) \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huiles essentielles,

M_{HE} : quantité d'huile essentielle récupérée (gr)

M_S : quantité de la matière végétale sèche utilisée (gr)

III-2-2-2-Cinétique d'extraction

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

Dans notre étude, le rendement est déterminé par prélèvement de l'huile essentielle à des intervalles de temps réguliers de 15 minutes qui s'étalent de 0 à 120 minutes en tenant compte que le début de l'extraction commence dès la formation de la première goutte du distillat, cette étape correspond à la mise à la température d'ébullition d'eau.

III-2-3-Analyse chromatographique en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) de l'huile essentielle

Dix milligrammes d'huile essentielle ont été dissous dans cinq millilitres d'éther diéthylique, puis 1µL de cette solution est utilisé pour l'analyse par la chromatographie en phase gazeuse et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS).

- **Analyse GC**

L'analyse de l'huile a été réalisée à l'aide d'un système HP GC 6890 de technologie Agilent avec détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisant une colonne capillaire revêtue de phényl-méthylsiloxane à 5% (30 mx 0,25 mm x épaisseur de film de 0,25 µm Agilent Technologies, Hewlett-Packard, CA, USA), Le programme de température était le suivant: 40 ° C pendant 1 min, puis élevé dans une première rampe à 200°C à 6°C/ min, suivi d'une seconde rampe à 280°C à 30°C/min, et finalement maintenu à 280°C pendant 2 min, L'injection a été réalisée en mode sans division à 280°C; le volume injecté était de 1 µL d'huile diluée (10 mg d'huile / 5 mL d'éther diéthylique), La température du détecteur a été fixée à 300 ° C; Le gaz porteur était de l'hélium à 1 ml/min

- **Analyse GC-MS**

L'analyse a été réalisée avec un système CG Agilent HP 6890 couplé à un détecteur sélectif de masse réseau HP 5973 Agilent actionné par le logiciel HP Enhanced Chem Station, Les conditions analytiques ont été fixées comme suit: Colonne capillaire Agilent HP-5MS (30 mx 0,25 mm, df=0,25 µm), injecteur sans éclats à 250°C (mode sans division), programme de température: de 40°-250°C à 6°C/min, phase mobile: gaz porteur hélium à 1 mL/min, Les spectres de masse ont été enregistrés en mode EI (70 eV), gamme de masse scannée: de 35 à 500 amu, Les températures de source et de quadripôle ont été fixées à 230°C et 150°C, respectivement, L'identification des composants a été réalisée sur la base d'indices de rétention chromatographiques et par comparaison des spectres enregistrés avec la banque spectrale calculée (Wiley 275, L) (Adams,2001), Pour les hydrocarbures sesquiterpéniques, d'autres confirmations ont été obtenues en comparant les spectres de masse avec les données de la littérature (Adams, 2001 et Joulain, König, 1998), Les indices de rétention (RI) ont été calculés au moyen d'un mélange de n-alcanes homologues (C₇-C₃₀) analysés dans les mêmes conditions chromatographiques que celles utilisées pour l'analyse des huiles essentielles (Adams, 2001).

L'identification des différents composants est basée sur la comparaison des temps de rétention de chaque composant, leurs spectres de masse et leurs indices de Kovats(KI) donnés par la littérature (Joulain, König, 1998 ; Adams, 2001) avec ceux des composés standards de la banque de données informatisées (Wiley 275,L), ceux décrits par Adams (2001) et également la base de données élaborée par l'Unité de Chimie générale et organique, Gembloux Agro Bio Tec, Université de Liège (Belgique).

III-2-4-Etude de l'activité acaricide des huiles essentielles

Le protocole expérimental adopté est appliqué sur 102 ruches infestées par *Varroa destructor* (fig 27), Les ruches ont été distribuées sur le site, localité hadj sadok wilaya de Ain Defla, de façon aléatoire et sont divisées en quatre groupes :

- 1- Groupe test de diagnostic d'existence du *Varroa* (période estivale), Il contient 30 ruches à raison de 10 ruches pour chaque type de traitement,
- 2- Douze (12) ruches pour le traitement par pulvérisation réparties en quatre lots, chacun avec trois ruches comme répétitions, Trois ruches pour le lot témoin et les trois lots restants constitués par des ruches traitées, Trois concentrations différentes HEs de thym sont utilisées 0,1%, 0,3% et 0,5%.
- 3- Trente (30) ruches pour le traitement par ingestion réparties en trois lots, chacun avec dix ruches comme répétitions, dix ruches pour le lot témoin et les deux lots restants constitués par des ruches traitées, par des solutions d'infusion de thym et d'origan.
- 4- Trente (30) ruches pour le traitement par ingestion réparties en trois lots, chacun avec dix ruches comme répétitions, dix ruches pour le lot témoin et les deux lots restants constitués par des ruches traitées par des bouffées de fumée de thym et d'origan.

Les ruches étaient distantes l'une de l'autre de deux mètres avec des orientations différentes pour éviter le phénomène de dérive des butineuses et éventuellement la contamination par des maladies, Cependant des vérifications sont effectuées tels que:

- L'état de la ponte: si la reine est vigoureuse, si elle pond ou non, la présence des œufs, les larves, les cellules royales et les cellules mâles.
- L'état operculé ou non du couvain.
- Le niveau de remplissage des alvéoles à miel.
- La mortalité des abeilles au trou de vol et sur la planche graissée.
- Le comportement des butineuses.



Figure 27 : Le site expérimental

III-2-4-1-Test de diagnostic d'existence du varroa (période estivale)

Un test diagnostic utilisant la méthode biologique “ pose des langes ” ou “ couvre-fond ” a été réalisé avant l'application des traitements pendant la période estivale sur 10 ruches de mêmes colonies d'abeilles *Apis mellifera intermissa*, contenant des cadres de couvains fermés ou/et désoperculés et qui n'ont subi aucun traitement anti-varroa, Cette méthode consiste à équiper le fond de la ruche par un plateau grillagé à maillage suffisamment fin pour laisser passer les varroas mais pas les cadavres d'abeilles glissés entre le fond de la ruche et les cadres, Au-dessus du fond de la ruche, on place des langes enduits de graisse (la vaseline), En effet, des varroas tombent au fond de la ruche (épouillage, chute au moment de l'émergence de la jeune abeille, etc...) et sont ensuite enlevés et examinés soigneusement à l'aide d'une loupe pour détecter les varroas morts parmi les nombreux débris, Cette méthode a duré 30 jours au cours desquels les langes sont remplacés le matin une fois/3 jours, L'estimation de la population des abeilles se fait parallèlement par la mesure de la surface du couvain (Robaux, 1988).

De nombreuses études ont montré l'intérêt de cette technique pour évaluer, contrôler et réduire la population de *Varroa* au sein des colonies, En effet, il permet la détection de la présence du parasite puis de confirmer et d'évaluer le degré d'infestation, Aussi, le diagnostic permet d'établir une méthode à suivre pour préserver les abeilles dans les meilleures conditions possibles (Harbo et Harris, 2004).

Trois méthodes biologiques seront testées, à savoir : la pulvérisation, la fumigation, et l'ingestion, Le but principal de ces essais est de déterminer la méthode d'application la plus efficace.

III-2-4-2-Traitement du varroa

III-2-4-2-1-Traitement des varroas par pulvérisation

Ce travail a été effectué du 14 janvier - 26 février 2012, Douze (12) colonies d'abeilles mellifères (*Apis mellifera* L.) ont été choisies, Elles ont été divisées en quatre groupes, L'un deux est désigné comme témoin, les trois autres sont à des concentrations de 0,1%, 0,3%, et 0,5% d'huile essentielle de thym dilué dans l'éthanol à 96%, Les colonies ont été traitées à cinq reprises à raison d'une fois/ six jours en pulvérisant directement sur le haut des cadres et ce, pour assurer un bon contact du traitement avec les abeilles et les acariens, Les langes graissées seront ensuite retirées et examinées attentivement au moyen d'une loupe pour y détecter les varroas morts, Les acariens morts sont comptés tous les 3 jours, La surface, en forme d'une ellipse est alors calculée.

III-2-4-2-2-Traitement par fumigation

50 gr de la matière fumigène est placée dans l'enfumoir et doit se consumer d'une forte source de chaleur et le plus rapidement possible, Les différentes ruches qui constituent le lot traité reçoivent des bouffées de fumée pendant 5mn par le trou de vol afin de se diffuser à l'intérieur de la ruche, Les traitements ont commencé le 15 Mai 2012, avec des répétitions chaque trois jours et ce pendant un mois, Le dénombrement des varroas morts commence dès le quatrième jour après chaque premier traitement et il est effectué à l'aide d'une loupe.

III-2-4-2-3-Traitement par ingestion

250 ml d'eau sont chauffées à 100°C, auquel on ajoute 50gr de feuilles de thym ou d'origan afin de préparer l'infusion dans une boîte bien fermée ; à la fin on rajoute 250g de sucre avec de l'eau tiède, La distribution du mélange (sirop) se fait tous les 3j, Lors de la distribution le reste du sirop est récupérée avant la nouvelle distribution.

III-2-4-3-Les variables mesurées

III-2-4-3-1-Estimation du nombre d'abeilles dans la colonie

L'estimation de la population des abeilles se fait tous les 6j par les mesures de la surface du couvain, Les cadres utilisés dans les ruches d'expérimentation sont de type Langstroth, L'estimation du nombre d'abeilles dans une colonie se fait généralement sur les

ruches de type Dadant, Le tableau XIII, mentionne les dimensions internes des cadres de ces 2 types du ruches pour faciliter l'estimation dans les ruches de type Langstroth.

Tableau XIII : Dimension internes (mm) des cadres Dadant et Langstroth

(Berkani et *al.*, 2005)

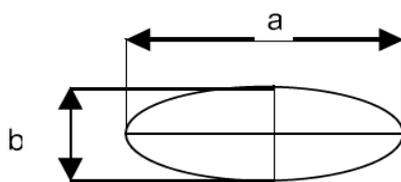
Type de cadres	Cadre de corps Dadant	Cadre de hausse Dadant	Cadre de corps Langstroth
Dimension internes des cadres (mm)	430*230	430*130	410*200
Surface interne des cadres (mm ²)	98900	55900	82000

Quatre cadres de corps Dadant renferment environ 1Kg d'abeilles, Alors, un cadre renferme 250gr d'abeilles soit 2500 abeilles, Sachant que le poids moyen d'une abeille est estimé à 0,1 gr, un cadre Dadant de superficie égale à 98900 mm² contiendrait 250 gr d'abeilles, donc un cadre Langstroth aura 207 gr d'abeilles, Ces évaluations doivent permettre de comparer le développement des colonies infectées,

Nous rapporterons les éléments suivants :

- **Surface du couvain**

Après chaque traitement, la longueur et la largeur du couvain sur les deux faces du cadre dans chaque ruche sont mesurées (fig 28), Les couvains que nous avons mesurés ayant une forme presque ovoïde (elliptique), alors on calcule la surface en utilisant l'équation suivante :



$$\text{Surface} = \pi / 4 \times a \times b$$



Fig 28 : l'équation de calcul de la surface de couvain

a : le grand axe

b : le petit axe Si nous avons " n " cadres de couvain sur les deux faces des cadres, la surface totale du couvain est : $S = 2(S_1 + S_2 + S_3 + \dots + S_n)$,

Soit selon le calcul de la surface = a x b, si la surface représente un rectangle, Le calcul sera plus simple $S=(a \times b) \times 2$

III-2-4-3-2-Estimation du nombre du varroa dans la colonie

La méthode biologique « pose de langes » est appliquée, Elle consiste à recueillir les varroas morts tous les trois jours (**Fig 29**), durant les périodes estivale et hivernale, Ce choix repose sur deux points :

- Les femelles *Varroa* ont une durée de vie de l'ordre de 2 ou 3 mois en été et de 4 à 6 mois en hiver (Robaux, 1986),
- La majorité des varroas morts tomberont sur les langes et il sera facile de les dénombrer (Robaux, 1986).

Il est préférable d'utiliser cette méthode durant la période estivale (Août-Octobre), car 68% des Varroa meurent en effet durant cette période de l'année (Ritter et Ruijter, 1980 ; Ritter et al, 1984).

Le diagnostic a été réalisé durant la période estivale (de 22/08/2011 à 22/09/2011), sur le plancher des 10 ruches d'abeilles, afin de prouver l'existence du varroa dans le rucher, Les feuilles graissées sont posées, et ensuite retirées après trois jours et ce, de façon régulière, pendant un mois afin d'effectuer le dénombrement des Varroas morts.

Nous estimons ainsi et par une simple division de mortalité journalière, cette valeur multipliée par 90 jours (la durée maximale de vie de femelle Varroa), Nous déduirons le nombre de Varroa existant dans la colonie, Pendant le déroulement de l'expérimentation aucun traitement anti-varroa ne devrait être effectué sur ces ruches, A la fin de la période estivale, la population d'abeilles décroît de façon naturelle ; parallèlement, le nombre de varroa est croissant car ils se sont multipliés durant la saison apicole (Clément 2006).



Fig 29 : dénombrement des Varroas morts.

III-2-4-3-3-Estimation du taux d'infestation d'une colonie

Après l'évaluation de la force des colonies et l'estimation du nombre de varroa, on peut utiliser le rapport entre les deux valeurs pour calculer le taux d'infestation comme suit :

$$d^{\circ}I_{i_0} = C/P$$

d°I_{i0}:degré d'infestation initial

C : nombre de varroa estimé dans une colonie en faisant la multiplication

C=B x 90

P : nombre d'abeilles estimé dans une colonie

B : mortalité journalière de varroa, obtenu en faisant le rapport A/30

A : nombre de varroa morts pendant 1mois

III-2-5-Calcul statistique

Les traitements statistiques réalisés sont effectués à l'aide du test de Newman et Keuls au seuil de 5% d'erreur a permis de déterminer le degré de signification entre les facteurs que nous avons testés ces facteurs sont : (huile essentielle, espèces végétales concentration d'HE, durée de traitement, la mortalité du varroa et l'évolution de la surface du couvain, la fumée de thym et de l'origan).

Chapitre IV

Résultats et discussion

Introduction

Afin d'élaborer une carte de répartition des deux genres *Thymus* et *Origanum* à travers la wilaya d'Ain Defla, nous avons effectué des sorties successives dans les deux massifs Dahra - Zaccar et Ouarsenis dans la wilaya de Ain Defla,

IV-1- Répartition des deux genres *Thymus* et *Origanum* à travers la wilaya d'Ain Defla,

IV-1- 1- Genre *Thymus*

Trois espèces de genre *Thymus* poussant à l'état sauvage sont obtenues dans les deux massifs et identifiées par le département de botanique de l'Ecole Nationale Supérieure d'Alger (ENSA) comme étant : *Thymus fontanesii*, *Thymus ciliatus* et *Thymus algériensis* (Fig, 30),



(A)

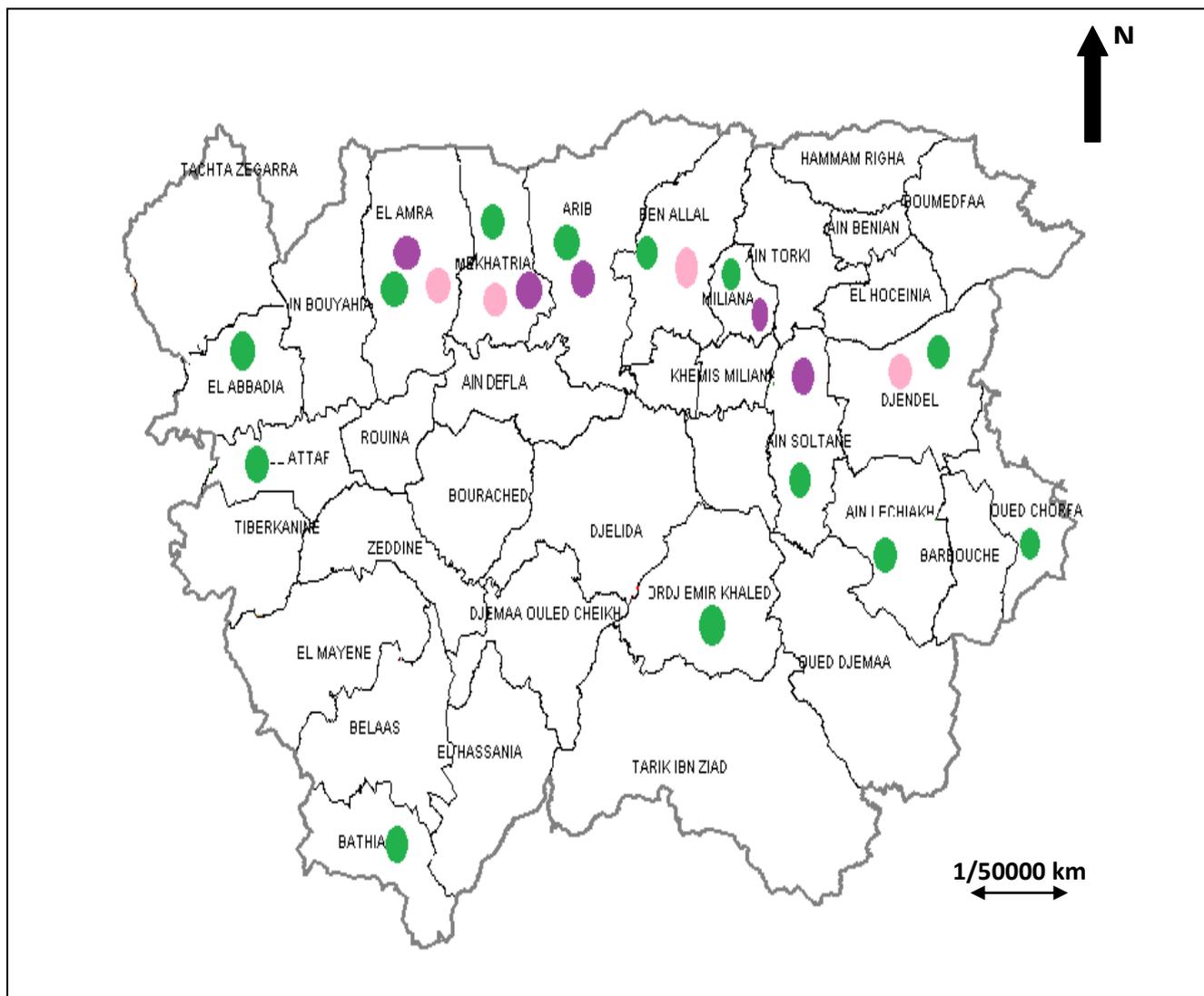
(B)

(C)

Fig 30 : Espèces de Thym (photo personnelle)

(A) *Thymus fontanesii* (B) *Thymus ciliatus* (C) *Thymus algériensis*

La répartition des trois espèces de thym (*T.algeriensis*, *T.ciliatus* et *T.fontanesii*) est variable à travers la wilaya d'Ain Defla (fig,31), Cette situation est due principalement aux facteurs pédoclimatiques et le climat semi-aride de la région qui se caractérise par un hiver froid et humide et un été chaud et sec, La température moyenne hivernale est comprise entre 0-6°C et celle estivale oscille entre 32- 40°C, Quant à la pluviosité moyenne annuelle, elle oscille entre 300 et 600 mm de pluie, avec un pic de 800 mm enregistré aux monts de l'Ouarsenis, Les terrains sont tendres, à prédominance marneux dans le Dahra Zaccar, schisto-marneux à l'Ouarsenis avec des altitudes pour Dahra : 700m, Zaccar : 1576m et l'Ouarsenis : 1700m,



● *Thymus fontanesii* ● *Thymus ciliatus* ● *Thymus algeriensis*

Fig. 31 : Carte de répartition de trois espèces de genre *Thymus* (*T. fontanesii*, *T. ciliatus* et *T. algeriensis*) dans la wilaya d'Ain Defla

L'étude nous a permis de recenser 13 communes et 27 localités de répartition de trois espèces de thym et d'identifier la nature et l'abondance des groupements végétaux existants sur du sol en général schisteux marneux, Ces espèces varient en fonction du climat, du relief et de l'altitude (Tableau XIV),

Tableau XIV : Répartition du Thym au niveau de la Wilaya d'Ain Defla

Commune	Localité ou lieu dit	Superficie (ha)	Possibilité de récolte annuelle estimée (Quintal)
Mekhatria	Sidi Lekhel	20	50
	Boukaabane	06	02
	Targhout	10	20
El Amra	Annab	10	02
	El Aamarcha	12	06
	Ziadir	05	02
Arib	Sidi Ameer	05	05
	Oued El Had	05	05
El Abadia	Bourzizen	05	02
	El Chorfa	15	05
El Attaf	Temoulga	20	02
Bathia	Tafrent	15	05
	Sidi Khaled	10	02
Bordj E, K	Aghbal	20	10
Ain Lechiekh	DouiHasni	05	05
	Guernine	15	10
Ain Soltane	Beni Amrane	10	05
	Ain Soltane	02	05
	Zemala	10	02
Djendel	Ain Edem	20	30
	M'Harza	20	06
	Si Nacer	05	06
	Ouled Abas	10	06
Ben Allal	Ain Karma	10	05
Miliana	Ain Karma	05	02
	Zakar	10	05
Ain Torki	Tizi Ouchir	05	05

IV-1- 2- Genre *Origanum*

La distribution de l'*Origanum vulgare* est hétérogène et moins importante, elle suit celle du thym (fig,32) en raison du massif de Dahra-Zaccar qui se caractérise par des terrains marneux et une pluviométrie oscillante entre 400 - 500 mm/an, Cette plante aromatique pousse à l'état sauvage sur des sols chauds, calcaire, à l'abri du vent et ensoleillé,

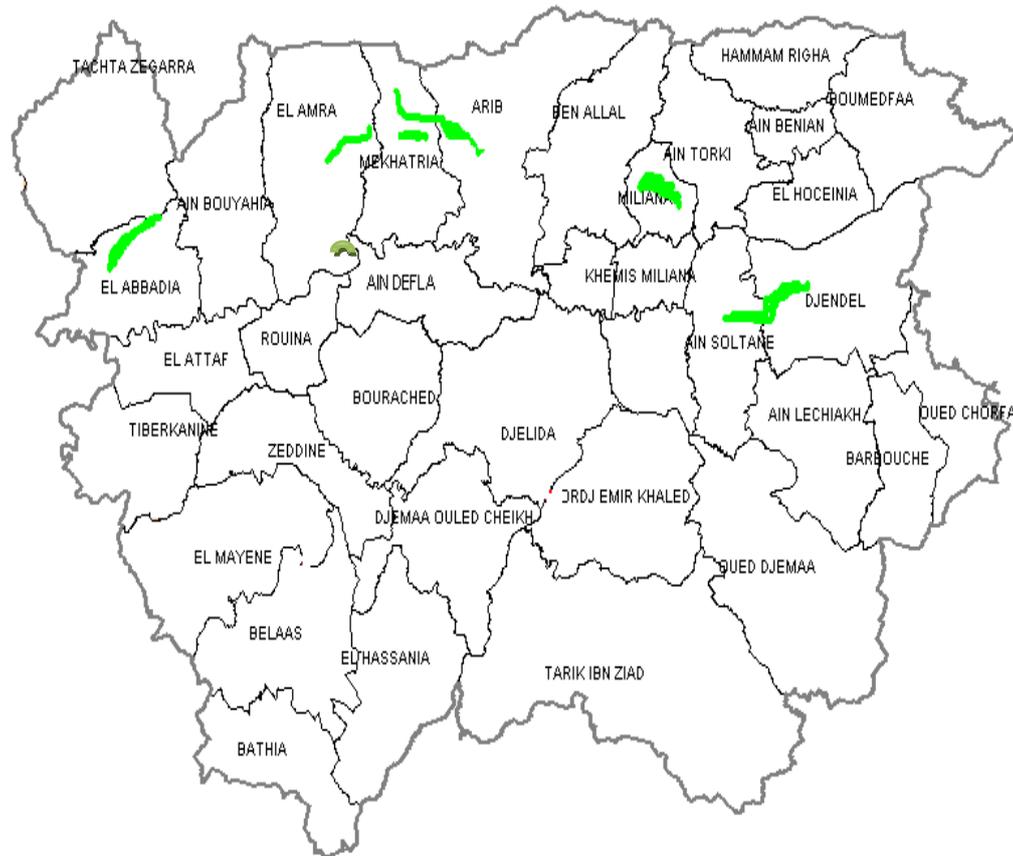


Fig. 32 : Carte de répartition d'*Origanum vulgare* L à travers la wilaya d'Ain Defla

L'étude nous a permis de recenser 8 communes représentant 16 localités de répartition de l'espèce « *Origanum vulgare* L » et d'identifier la nature et l'abondance des groupements végétaux existants (Tableau XV),

Nous constatons que l'*Origanum* (fig 33) est réparti à travers 08 communes avec des superficies oscillant entre 05 et 20 ha (115ha) et des rendements varient de 1 à 5 qx/ha soit un total de 45qx, Cette répartition semblerait avoir une relation avec les altitudes,

Tableau XV : Répartition de l'*O. vulgare* L au niveau de la Wilaya d'Ain-Defla

Commune	Localité ou lieu dit	Superficie (ha)	Possibilité de récolte annuelle estimée (Quintal)
Mekhatria	Sidi Lekhel	05	02
	Targhout	05	02
El Amra	Annab	10	05
	Ziadir	05	02
Arib	Sidi Ameur	05	02
El Abadia	El Chorfa	05	02
Bourached	Doui	20	03
Ain Soltane	Beni Amrane	10	05
	Ain Soltane	02	01
	Zemala	10	05
Djendel	Ain Edem	05	05
	M ^o Harza	05	03
	Si Nacer	05	02
	Ouled Abas	10	02
Miliana	Ain Karma	05	02
	Zakar	10	02

Les rendements en matière sèche estimés varient de 215 à 240 kg/ha avec des teneurs en huile essentielle variant de 1,5 à 7,1 % MS, Les rendements en huile sont donc aussi très variables de 4 à 74,5 l/ha (Gilles, 2007), Ces variations seraient dues à l'augmentation de la taille du pied en fonction de son âge.



A

B

C

Fig. 33 : Photos de gauche à droite d'*O. vulgare*, dans des sols arides, rocaillieux,

A : stade de la floraison B : touffes compactes C : ramifiées

IV-2-Etude phytochimique de *T. algeriensis* et d'*O. vulgare*

IV-2-1- Extraction des huiles essentielles de *T. algeriensis*

Les échantillons de *T. algeriensis* ont fourni un rendement en HE qui varie entre un minima au mois de mars de 0,32 % et un maxima au mois de juin de 3,16 % (Fig34 et annexe 1) qui correspond à la période de pleine florescence de la plante, Ensuite, le rendement décroît lentement jusqu'au mois de décembre, Ce rendement est plus élevé que celui obtenu par (Amarti et *al.*, 2010) qui est de 0,3 % ± 0,07, Ce dernier est plus faible par rapport à celui rapporté par (Dob et *al.*, 2006) et qui est de 1,13.

Hudaïb et *al.*,(2002) ont souligné l'importance du choix de la période de récolte du thym pour obtenir une huile de qualité et en quantité, Ils ont trouvé que le rendement diffère d'une période à une autre, Le meilleur rendement (1,2%) est obtenu pour la plante récoltée fin juillet, De même, ils ont montré l'influence de l'âge ou du stade de développement de la plante sur le rendement et la composition de l'huile, La plante de deux ans donne un rendement de 0,5% alors que celle de cinq ans donne un rendement de 0,15% , la plante étant cueillie à la même période (Faleiro et *al.*,2003).

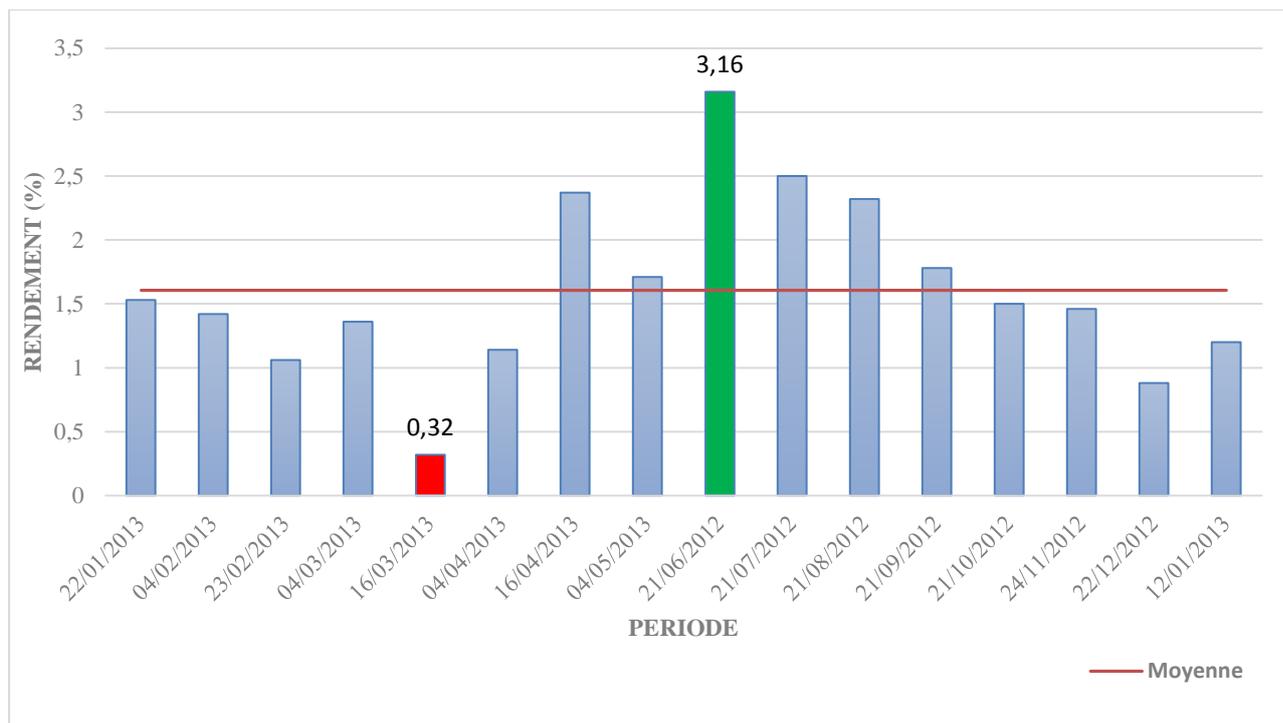
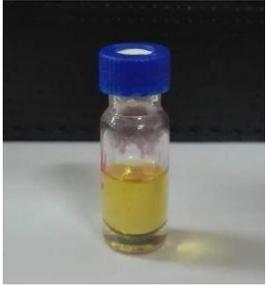


Fig. 34 : Influence de la période de récolte sur le rendement des huiles essentielle de *T.algeriensis*

IV-2-1-1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *T. algeriensis*

Les seuls critères d'applications d'une huile essentielle étaient ses propriétés organoleptiques tels que le goût, la couleur, et l'odeur, Ces propriétés ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence, La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées, Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale (AFNOR, ISO....,) en précisant les conditions opératoires des analyses, et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des huiles essentielles les plus courants, Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé à ceux des normes AFNOR (2002) (Tableau XVI),

Tableau XVI : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *T.algeriensis*

Caractéristiques	Normes (Afnor, 2000)	Résultats obtenus	
Aspect	Liquide mobile et limpide	Liquide	
Couleur	jaune pale	Jaune	
Odeur	très aromatique Epicée rappelant celle du thymol	Epicée rappelant celle du thymol	
saveur	douce	douce	

IV-2-1-2- Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de *T.algeriensis*

Afin de visualiser la variation du rendement en huile essentielle au cours du temps, nous avons procédé aux mesures des quantités d'huiles extraites toutes les 15min pendant une durée de 90 min.

1ère étape : Durant la première demi-heure, nous remarquons que la quantité extraite est nulle, ceci s'explique par le fait que cette période est nécessaire pour atteindre l'ébullition de l'eau.

2ème étape : De 30 à 45min, la quantité extraite est très importante (pentes de courbes très abruptes).

3ème étape : De 45 à 60min, les quantités extraites commencent à baisser de manière significative (pentes de courbes moins raides), c'est une phase de ralentissement.

4ème phase : De 60 à 90min, sur la plupart des courbes nous observons des quantités stationnaire, pentes de plus en plus faibles), Cette phase correspond à l'épuisement de la matière végétale (fig. 35 et annexe 2).

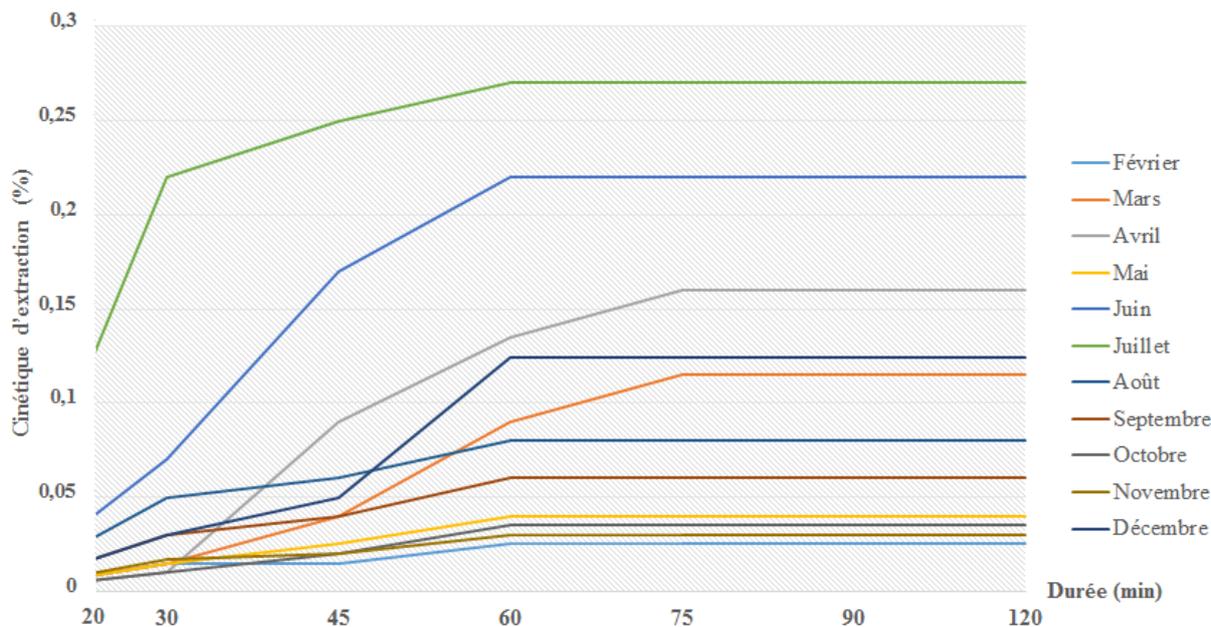


Figure 35 : Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis*

IV-2-1-3-Caractérisation des huiles essentielles de *T.algeriensis*

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de notre échantillon a permis d'identifier 22 composés qui représentent environ 95,32% (Tableau XVII et annexe 3),

Les composés majoritaires des HEs extraites sont principalement le carvacrol (45%), γ -terpinène (12,56%), p-Cymène (11,88%) et thymol (8,17%), Ces résultats diffèrent par rapport à ceux obtenus par Ksouri *et al.*, (2015), dont les composés majoritaires sont camphor (16,7%) ;1,8 cineol (13,9%) et α -pinene (13,6%), alors que Zayyad *et al.*,(2014), ont signalé la présence du Thymol (37,78%), et α -terpinène (15,13%), et Giwali *et al.*,(2013),ont obtenu Thymol (38,50%) et p-cymene (8,91%) comme composants majoritaires.

Cette composition chimique est différente de celle de l'huile essentielle étudiée par Dob *et al.*, (2006) qui rapportent comme principaux constituants : le linalol (43,3 %), thymol (29,2 %) et p-cymène (6,8 %), Les huiles de *T. algeriensis* originaires de Khedara et Fatoum Souda (Algérie) présentent les mêmes composés majoritaires, mais elles sont plus riches en α -pinène (27,14-25,52 %) qu'en camphre (8,77-8,45 %), en plus du 1,8-cinéole (7,69-7,68 %), du sabinène (5,25 -5,61 %) et du β -pinène (2,66-3,12 %) (Giordani *et al.*, 2008).

Tableau XVII: Composition chimique de l'huile essentielle de *T. algeriensis*

N°	Composés	Tr	Concentration (%)
1	α -thujène	13,50	2,36
2	α -pinène	13,92	3,78
3	Camphène	14,75	0,03
4	Sabinène	16,70	0,18
5	β -pinène	16,45	0,25
6	Myrcène	17,48	2,18
7	α -phellandrene	18,27	0,3
8	Carène	18,67	0,11
9	α -terpinène	19,16	2,06
10	<i>P</i> -Cymène	19,96	11,87
11	Limonène	20,21	0,98
12	γ -terpinène	22,33	12,56
13	Linalol	25,25	4,27
14	Camphre	14,75	Trace
15	Bornéol	29,70	0,34
16	Menthol	30,53	0,4
17	α -Terpèneol	31,56	0,07
18	Thymol	39,00	8,17
19	Carvacrol	40,55	45
20	Eugenol	42,94	0,04
21	Acetate de Geranyl	43,65	0,015
22	β -Caryophellene	54,92	0,35
Monoterpènes			94,96
Sesquiterpènes			0,35
Total des composés identifiés			95,32

Lors de l'extraction, les huiles essentielles de *T. algeriensis* sont récupérées à des intervalles de temps réguliers et la composition a été déterminée pour chaque fraction, Les résultats présentés dans le tableau XVIII montrent bien l'influence de la durée d'extraction sur la teneur des composants de huile essentielle, Nous remarquons l'existence d'un polymorphisme au niveau de la composition chimique avec un composé majoritaire commun : le carvacrol, La composition chimique de *T. algeriensis* Boiss, & Reut est marquée par la présence du carvacrol (41,93 - 78,5%), γ -terpinène (25,96 -9,56%), *p*-Cymène (6,97 -1,54 %) et α -pinène (5,01-1,58 %) comme constituants majoritaires.

Nous remarquons également que le taux de carvacrol augmente avec la durée d'extraction à l'inverse des autres composants comme γ -terpinène, *p*-Cymène et α -pinène, Par ailleurs, ces composants présentent des corrélations deux à deux entre eux Belkamel *et al.,,*

(2013), En effet, on constate que lorsque la somme des concentrations du γ -terpinène et du p-cymène augmente, Ce sont les phénols, à savoir la somme des concentrations du thymol et du carvacrol qui diminue et vice versa, D'après ces résultats, on constate un rapport parfait de biosynthèse entre les quatre éléments (pris deux à deux),

Russo *et al.*, (1998) indiquent que dans le cas des composés phénoliques (thymol et carvacrol), la voie métabolique se fait par l'aromatisation du γ -terpinène en p-cymène, suivie de l'hydroxylation enzymatique du p-cymène en thymol et carvacrol, Selon Poulouse et Croteau (1978), le γ -terpinène et le p-cymène sont les précurseurs biogénétiques (via une hydroxylation enzymatique) des deux terpènes phénoliques, le thymol et son isomère le carvacrol,

Tableau XVIII : Variation de la composition chimique de l'huile de *T.algeriensis* au cours de l'extraction,

N°	Composés	TR ^a	30 min	60min	90min
			Concentration (%)		
1	α -thujène	13,50	2,64	1,36	0,87
2	α -pinène	13,92	5,01	2,91	1,58
3	Camphène	14,75	0,1	0,1	0,04
4	Sabinène	16,70	0,09	0,1	0,05
5	β -pinène	16,45	0,24	0,16	0,16
6	Myrcene	17,48	2,92	1,67	0,97
7	α -phellandrene	18,27	0,28	0,2	0,11
8	Carène	18,67	0,08	0,07	0,04
9	α -terpinène	19,16	2,72	1,61	0,93
10	p-Cymène	19,96	6,97	2,95	1,54
11	Limonène	20,21	1,1	0,7	0,32
12	γ-terpinène	22,33	25,96	15,94	9,56
13	Linalol	25,25	3,09	1,52	1,12
14	Bornéol	29,70	0,11	0,09	0,03
15	Menthol	30,53	0,14	0,08	0,03
16	Thymol	39,00	0,4	0,12	0,38
17	Carvacrol	40,55	41,93	67,49	78,5
18	β -Caryophellene	54,92	0,17	0,41	0,31
Monoterpènes			93,78	97,07	96,23
Sesquiterpènes			0,17	0,41	0,31
Totale des composés identifiés			93,95	97,48	96,54

IV-2- 2-Extraction des huiles essentielles d'*O.vulgare* L.

Le rendement des huiles essentielles d'*O. vulgare* extraite par hydrodistillation varie de 0,02-0,09%, Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles obtenues demeurent extrêmement faibles (fig, 36 et annexe 4), Ces faibles rendements pourraient être attribués à la sénescence des feuilles récoltées durant tous les mois de l'année comme l'ont rapporte Padrini et Luchroni (2003), En revanche, exception faite pour le mois de Juillet où nous avons enregistré une valeur relativement importante, Il est à signaler aussi que cette valeur a été obtenue durant la période de floraison.

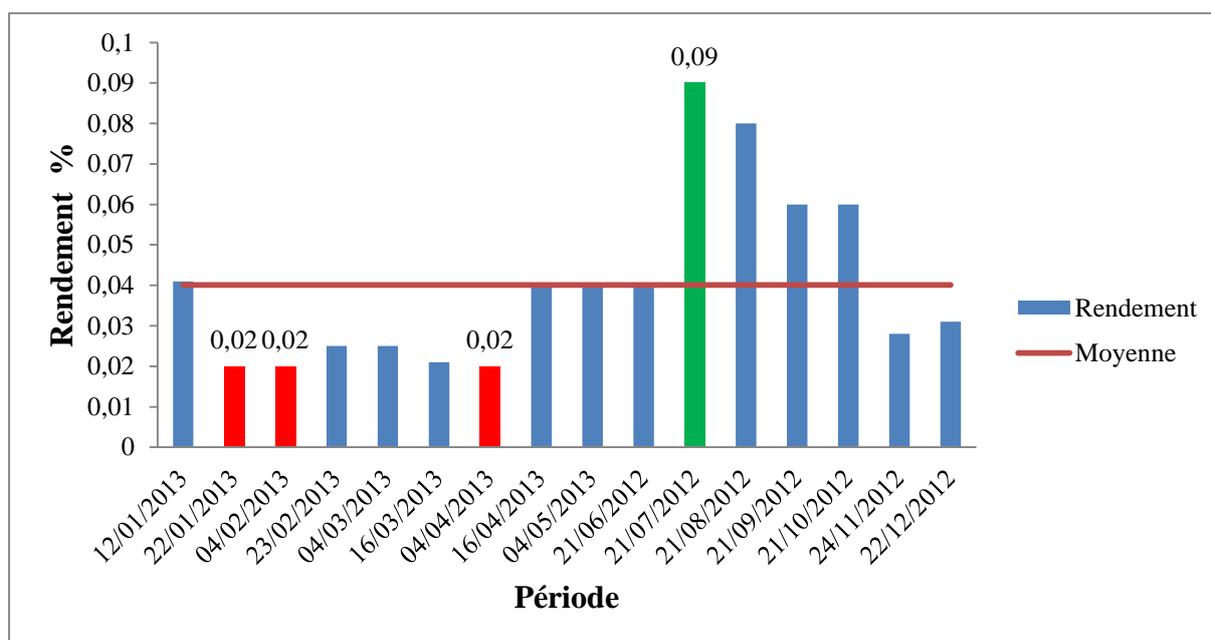


Figure 36 : Rendement de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* L,

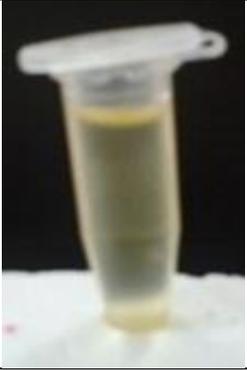
Ces rendements restent largement inférieurs par rapport à celles rapportées par Ram Swaroop et *al.*, (2012) et ce au stade de pleine floraison (0,30%) , au début de floraison (0,25%), au stade végétatif tardif (0,21%) et au stade végétatif précoce (0,20%), Ces derniers résultats corroborent les travaux de Lawrence, (1984) qui rapporte des valeurs comprises entre 0,5 et 2,9 %,

Dans la plupart des plantes aromatiques, l'huile essentielle s'accumule préférentiellement au cours de la période de floraison. Ceci pourrait être dû à un rôle écologique dans l'attraction des pollinisateurs ainsi qu'à leurs mécanismes de défense comme le signalent Verma Rahmane et *al.*,(2010) ou encore durant la période de métabolismes intensifs comme les périodes de floraison et de fructification, Naghdi Badi et *al.*, (2004) .Turgut Dunford et Silva Vazquez (2005) quant à eux attirent l'attention sur le rôle que pourrait jouer la composition des sols ainsi que le taux d'humidité dans ce processus.

IV-2-2- 1- Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*O.vulgare* L.

Nous avons déterminé les caractères organoleptiques de l'huile essentielle l'extraite par hydrodistillation, Celle-ci est de couleur jaune très pale, de saveur douce et d'odeur fortement aromatique, Ces résultats sont similaires à ceux des normes AFNOR (2002)et présentés dans le tableau XIX.

TableauXIX: Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*O.vulgare*

Caractéristiques	Normes AFNOR, (2002)	Résultats obtenus	
Aspect	Liquide mobile et limpide	Liquide	
Couleur	Jaune très pale	Jaune	
Odeur	Aromatique rappelant celle du thymol	Aromatique épicée	
Saveur	Douce	Douce	

IV-2-2- 2- Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'*O.vulgare* L,

L'huile essentielle est récupérée à des intervalles de temps réguliers de 15 minutes pendant 1h 30.

Les différentes expérimentations conduites dans ce sens, jusqu'à épuisement du substrat en essence, ont montré que la durée de distillation diffère d'un temps à un autre, Cette différence serait fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des essences qui peuvent être superficielles ou internes (Fig, 37 et annexe 5).

De ce fait, elle aurait une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, en d'autres termes, sur les mécanismes successifs mis en jeu et par conséquent sur la durée comme le souligne Koedam, (1987).

Pour l'origan, ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule constituent les seules barrières à la libération de l'huile essentielle, Celles-ci sont vite rompues à ébullition puis les composés volatils sont aussitôt évaporés.

La cinétique d'extraction peut être subdivisée en quatre étapes :

- 1^{ère} étape (0-20mn) phase d'ebulution: les quantités extraites sont nulles pour les échantillons cueillis entre les mois de Janvier et de Maidurant l'année 2011-2012,

Ceci s'expliquerait par le fait que cette durée serait nécessaire pour porter la solution à ébullition, Aussi, le stade végétatif aurait son influence durant cette période, En revanche, les quantités extraites sont non négligeables pour les autres périodes de l'année.

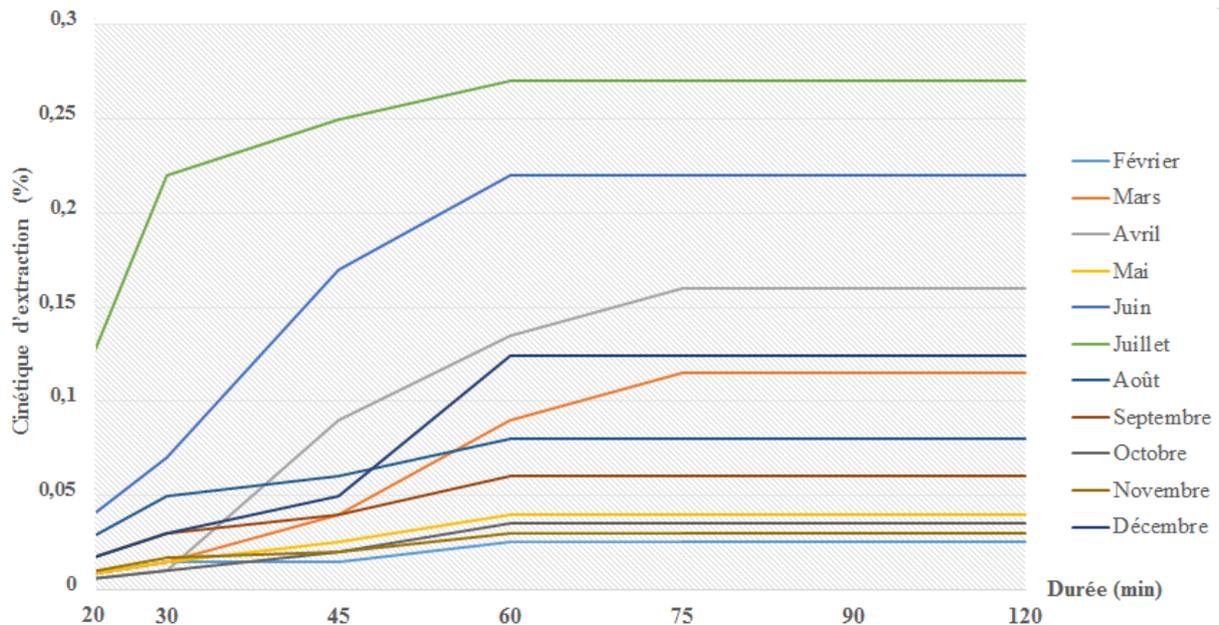


Figure 37 : Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'*O. vulgare* L,

- 2^{ème} étape (20 – 60 min) phase d'extraction maximale : La quantité extraite est très importante (pentes de courbes très abruptes),
- 3^{ème} étape (60 - 75min) phase de régression : les quantités extraites commencent à baisser de manière significative (pentes de courbe moins raides), Elle représente une phase de ralentissement.
- 4^{ème} phase (75-120min) phase d'épuisement : Sur la plupart des courbes, nous avons observé un ralentissement encore plus important (pentes de plus en plus faibles), Nous considérons ainsi que cette phase est celle du déclin.

En résumé, après la première période 0-20min , « temps de mise en ébullition », le rendement a atteint son paroxysme durant les 15 premières minutes puis s'en suit une décroissance rapide ,Ceci s'expliquerait par le fait que durant le deuxième quart d'heure, l'extraction s'opère directement à partir de la surface de la matière végétale (huile superficielle) par phénomène de diffusion à partir des poils sécréteurs (Spiro et Chen, 1994).

La seconde partie concerne l'extraction des huiles essentielles contenues dans le corps de la plante et plus exactement dans les espaces intercellulaires spécialisés (sécrétion endogène), Ceci a été relaté par Skoula et *al.*, (1999). Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont extrêmement faibles, Nos résultats corroborent à ceux de Padrini et Luchroni (2003) qui rapportent que pour produire 200 g d'essence, il faut 100 kg de plantes fraîches.

IV-2-2- 4- Caractérisation des huiles essentielles d'*O.vulgare* L.

Au total, dix neuf constituants représentent 96,3% de la composition identifiée (Tableau XX et annexe 6), Les huiles sont dominées par un composé phénolique, le carvacrol (53,87%) suivi par deux hydrocarbures monoterpéniques, γ -terpinène (18,35%), p-cymène (6,87%) et le linalol (4,68%), En revanche, le thymol n'a représenté que 0,55 %.

La teneur en huile essentielle et la composition d'*O. vulgare* pourraient être associée à l'expression des différents gènes du stade de développement de la plante ou aux facteurs environnementaux découlant des variations saisonnières.

Verma et *al.*, (2010) ont identifié 37 composants de l'huile essentielle d'*O.vulgare* dont les principaux sont :carvacrol (52,17 - 66,08%), γ -terpinène (5,53 - 24,13%) et p-cymène (4,17 - 34,43%), Fadli et Kessi (2005) et Ram et *al.*, (2012) ont signalé que le thymol représente le composé majoritaire respectivement pour l'huile essentielle d'*O.floribundum* (27,26%) et *O vulgare* L. (40,9-63,4%).

Cependant, toutes les huiles essentielles sont caractérisées par la prédominance de quatre composants dits majoritaires: thymol (7,7-43,08%), carvacrol (28,97-63,7%), p-cymène (3,6-13,51%) et γ -terpinène (0,77-13,2%) (Madani et *al.*, 2011).

Le carvacrol, thymol, γ -terpinène et linalol sont connus pour posséder de fortes propriétés antioxydantes et que le carvacrol et le thymol exercent également une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries (Bisht et *al.*, 2019, Teixeira et *al.*, 2013).

D'après Veres et *al.*, (2003), l'huile essentielle d'*Origanum* est de composition très variable et fonction de son origine, En outre, les composés phénoliques présents dans l'huile essentielle de l'espèce *Origanum* sont le reflet des activités biologiques qui ont changé selon les pratiques culturelles, l'origine, le stade de la plante et les saisons de croissance des plantes (Milos et *al.*, 2000 ; Celik, et *al.*, 2010).

Tableau XX, Composition chimique de l'huile d' *O. vulgare*

N°	Composés	Tr	teneur (%)
1	α -thujène	923	1,4
2	α -pinène	930	2,50
3	camphène	944	0,12
4	sabinène	970	0,14
5	β -pinène	973	0,23
6	β -myrcène	988	2,12
7	γ - terpinène	1060	18,35
8	linalol	1097	4,68
9	camphre	1146	0,09
10	bornéol	1175	0,13
11	α -phellandrène	1180	0,21
12	δ -3- carène	1867	0,07
13	α -terpinène	1196	1,66
14	p-cymène	1295	6,87
15	limonène	1216	0,69
16	menthol	3053	0,20
17	thymol	3900	0,55
18	carvacrol	4055	53,87
19	β -caryophellène	5492	0,30
Monoterpènes			96,02
Sesquiterpènes			0,30
Total des composés identifiés			96,32

IV-3- Activité acaricide des huiles essentielles du thym et de l'origan

Le présent chapitre présente les différents traitements appliqués aux colonies d'abeilles atteintes par le varroa et l'évaluation de l'activité acaricide pour chacun d'entre eux, Les différents traitements sont la pulvérisation, la fumigation et l'ingestion par le nourrissage.

IV-3-1-Traitement par pulvérisation

Le traitement par pulvérisation a été appliqué cinq fois pour chaque colonie au cours de la période de traitement et ce à différentes doses, à savoir, 0,1 ; 0,3 et 0,5%, Suite à ces applications, nous avons calculé le pourcentage d'infestation de varroas sur les ouvrières adultes, le nombre d'acariens morts, le nombre d'abeilles mortes ainsi que le pourcentage de l'infestation par le varroa.

IV-3-1-1-Surface du couvain

Les résultats des surfaces du couvain des quatre lots sont illustrés par la figure 38,et présentés dans l'annexe 7.

IV-3-1-1-1- Lot témoin (lot1)

Les résultats obtenus pour le lot témoin montrent une diminution de la surface du couvain (fig 38, histogramme 01) entre la période du traitement (01) et celle du traitement (03) « 613,67 à 301,44 cm² », ensuite, nous avons constaté une augmentation de cette surface entre la période du traitement (03) et celle du traitement (05) « 301,44 à 903,4 cm² ».

Ces variations pourraient être expliquées par le déroulement de notre expérimentation qui a coïncidé avec la période hivernale,Cette dernière a été caractérisée par des températures décroissantes variant de 9,08 à 2,89°C, Cette hypothèse est confortée par Rionde (2011) qui explique que les basses températures bloquent la ponte de la reine et diminuent l'activité des ouvrières.

D'un autre côté, entre la période du traitement (03) et du traitement (05), nous avons enregistré une augmentation des températures moyennes de 15,2 à 24°C, Durant cette période, la ponte est bien développée, la reine pond intensément « 1500 à 2000 œufs/jour », la colonie reprend son activité et donc il ya une augmentation des surfaces du couvain chez le lot témoins, Ces constatations vont dans le même sens des travaux antérieurs de Prost (1987) et de Chiron et *al.*, (2008).

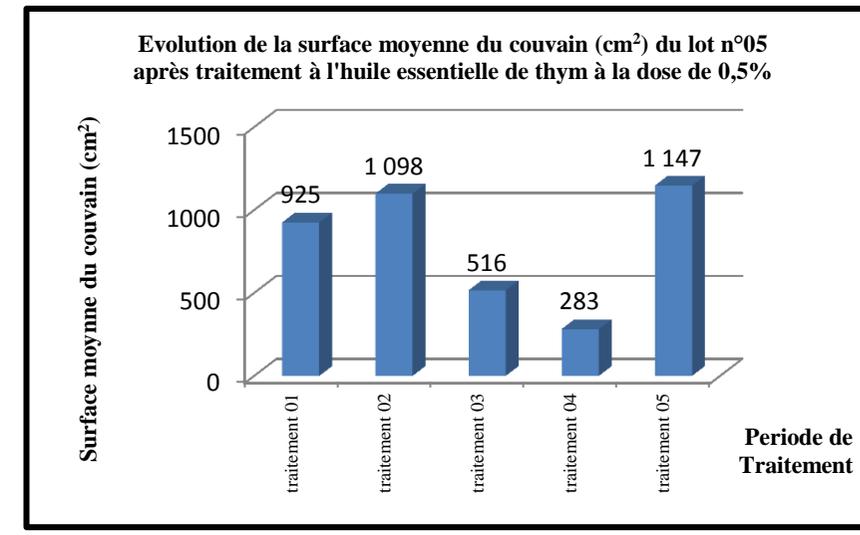
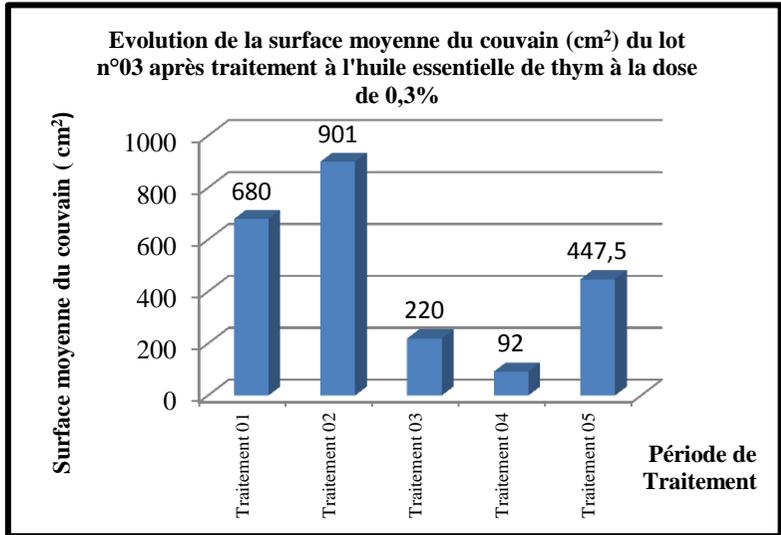
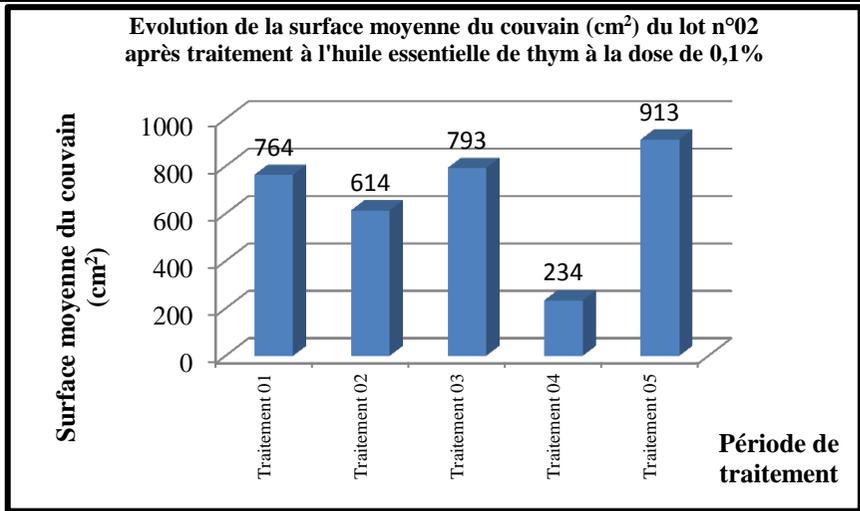
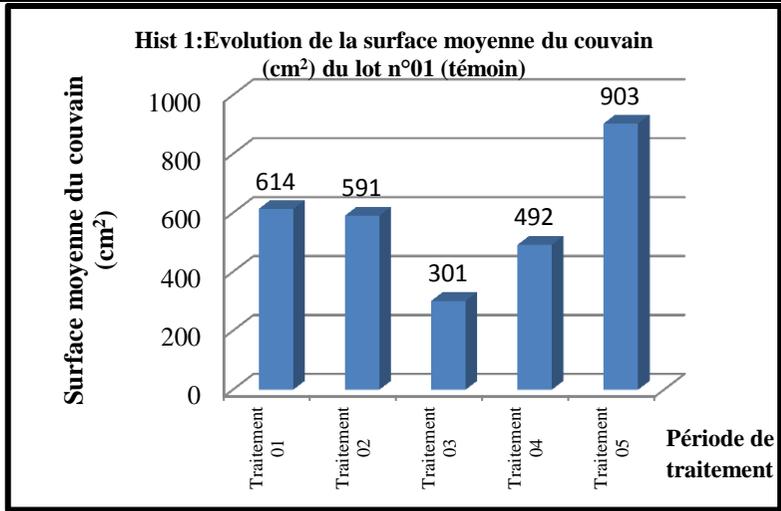


Figure 38: Evolution de la surface moyenne du couvain (cm²) des quatre lots

IV-3-1-1-2- Lot traité à 0,1% d'huile essentielle de thym (lot2)

Les résultats du traitement avec l'huile essentielle de thym à 0,1% montrent une diminution de la surface du couvain (fig 38, histogramme 02) après le traitement (02), Ceci pourrait être attribué au fait que :

- La ruche R5 n'a pas encore démarré la construction du couvain à cause des mauvaises conditions climatiques ;
- La ruche R6 présente une diminution de la surface du couvain à cause de l'absence de la reine que nous avons perdue au moment de la manipulation des traitements ;
- Une diminution de la surface du couvain après le traitement (04) qui revient à la ruche R6 qui a été abandonnée.
- Les ruches R4 et R5 montrent une diminution de la surface du couvain, Ceci serait dû à l'absence de la reine, or, nous avons remarqué la présence de cellules royales désoperculées dans cette période, ce qui expliquerait l'augmentation importante de surface du couvain après le traitement (05),

A partir de ces observations, nous pouvons avancer que le traitement à base d'huile essentielle de thym à la dose de 0,1% aurait un faible effet sur le développement des surfaces du couvain.

IV-3-1-1-3- Lot traité à 0,3% d'huile essentielle de thym (lot3)

Chez le lot traité avec l'huile essentielle de thym à 0,3%, nous avons remarqué que la surface du couvain est élevée après le traitement (01) et le traitement (02) « 679,8 vs 901cm² » tel qu'il est illustré par (fig 38, l'histogramme 03), A l'opposé, nous avons observé une chute importante de la surface du couvain après le traitement (03), Celle-ci se poursuit même après le traitement (04) et ce de, 901 à 220 cm² pour arriver à 92 cm², Cette chute reviendrait à l'absence de la reine illustrée par l'absence de ponte ainsi que la présence de cellules royales operculées.

Suite au traitement (05), le lot a récupéré son développement normalement et la surface du couvain a augmenté de 92 à 447,5 cm², Ces résultats montrent que le développement de la surface du couvain présente une évolution normale pendant toute la période du traitement : c'est-à-dire que la dose employée « 0,3% » n'aurait pas d'effets néfastes sur le développement de la colonie d'abeilles.

IV-3-1-1-4- Lot traité à 0,5% d'huile essentielle de thym (lot4)

Les résultats illustrés par la figure 38 , histogramme N°04, montre que la surface du couvain est élevée après le traitement (02) puisqu'elle passe de 925 à 1098 cm², (début d'hivernage).

Ensuite, nous avons remarqué une diminution remarquable qui continue après le traitement (03) « 1098cm² à 515,50cm² », et le traitement (04) « 515,50 à 282,50 cm² », Aussi, suite au traitement (05), le lot a repris rapidement son développement avec une valeur très importante de l'augmentation de la surface du couvain et ce de 282,5 à 1147cm².

A partir de ces résultats, nous pouvons déduire que le traitement à la dose de 0,5% aurait une influence sur le développement de la colonie, puisque celui-ci a donné de bonnes surfaces de couvain au début de la période de traitement et il l'affaiblie par la suite, Toutefois, à la fin, la colonie reprend fortement son développement et son activité.

IV-3-1-1-5- Evolution des surfaces des couvains

Les résultats des surfaces du couvain sont mentionnés dans l'annexe 8 et illustrés par la figure 39.

En superposant nos résultats obtenus pour les différents traitements (histogramme N°05), il apparait qu'à la fin du traitement, le lot N°04 présente une surface de couvain très élevée « 1147cm² », suivi par le lot N°02 « 913cm² », Ce dernier présente des résultats proches de ceux du lot N°01 « 903cm² », En dernier, le lot N°03 présente la plus faible surface de couvain avec 447,5cm².

Ces résultats nous permettent de conclure que :

- La dose de 0,5% d'huile essentielle de thym aurait un effet positif sur le développement de la colonie par rapport aux autres lots, malgré sa sensibilité à cette même dose au début du traitement ;
- La dose de 0,1% n'aurait aucune influence sur le développement de la colonie d'abeille car elle présente les résultats les plus proches du lot témoin ;
- La diminution de la surface du couvain chez le lot N°03 (dose de 0,3%) ne reviendrait pas au traitement, mais à la présence de ruches abandonnées, En effet, la colonie présente un développement normal et par conséquent, la dose du traitement n'aurait aucun effet néfaste sur la colonie d'abeilles.

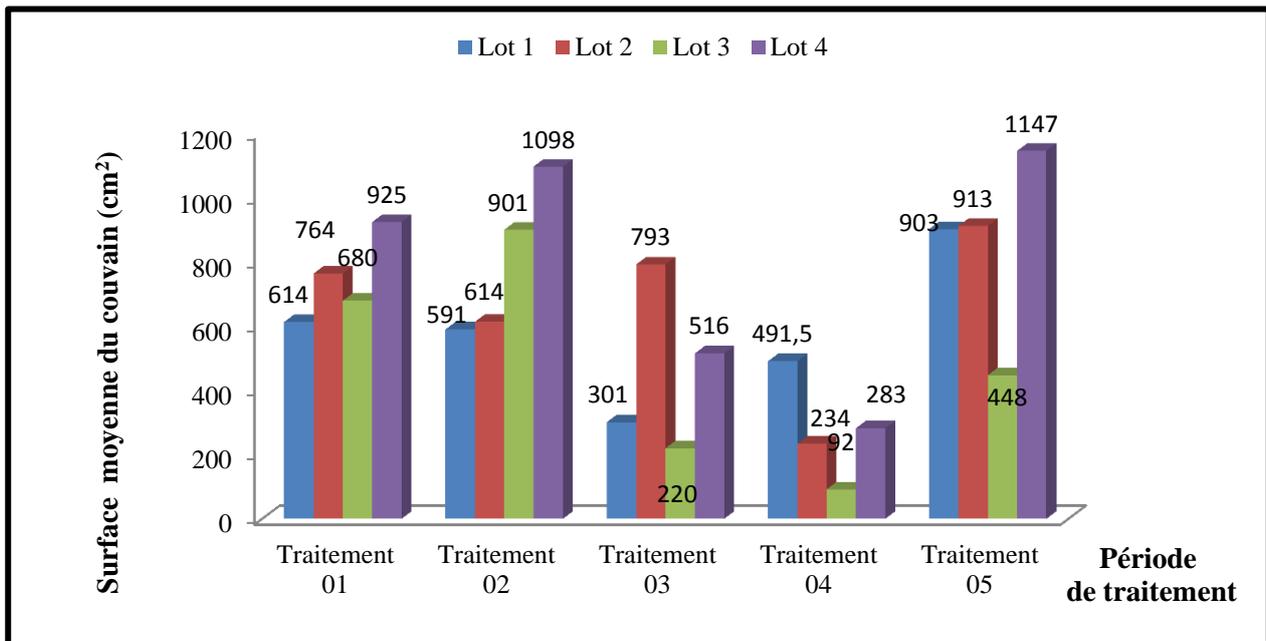


Figure 39 : Comparaison de l'évolution de la surface moyenne du couvain (cm²) entre les quatre lots

IV-3-1-2- Mortalité moyenne du *V. destructor*

Les résultats de mortalité du *V. destructor* des quatre lots sont illustrés par la figure 40 et présentés dans l'annexe 9.

IV-3-1-2-1- Lot témoin (lot1)

La mortalité moyenne du varroa enregistré chez le lot témoin a été en croissance entre la période du traitement (01) et (03), elle a atteint un pic durant la période du traitement (03) (de 98 à 562 Varroas), Toutefois, cette mortalité demeure faible et reviendrait à la présence de conditions favorables à l'extension du varroa, à savoir, une colonie en hivernage et des températures basses allant de 2,9 à 6,2°C, Ensuite, il a été observé une diminution de la mortalité « 562 à 215Varroas » après la période du traitement (04), suivie par une augmentation de 215 à 261varroas, ceci pourrait être attribué à une augmentation de la température qui a varié de 09 à 15,2°C, Cette supposition rejoint les conclusions des travaux antérieurs de Le Conte et *al.*, (2000) qui émet que les températures élevées inhibent la reproduction du varroa et provoquent ainsi sa chute naturelle.

IV-3-1-2-2- Lot traité à 0,1% d'huile essentielle de thym (lot2)

Dès le premier traitement, nous avons enregistré une mortalité moyenne de 296 individus, plus élevée par rapport au lot le témoin, Ceci prouve que le varroa serait sensible au thym. Cet effectif a diminué à 180 individus après le traitement (02), et a atteint un pic après le traitement (03) avec un effectif moyen de 589 individus, Suite au traitement (04), la mortalité a chuté à 153 individus et a légèrement augmenté « 159 individus » après le traitement (05).

Ces résultats montrent une similarité avec le lot témoin, Cette dynamique de chute ne reviendrait pas au traitement mais à la présence de températures défavorables au développement des acariens, En d'autres termes, l'effet acaricide du traitement par l'huile essentielle à la dose de 0,1% serait presque nulle.

IV-3-1-2-3- Lot traité à 0,3% d'huile essentielle de thym (lot3)

Le lot n°03 a présenté une faible mortalité dans les deux premiers traitements avec un effectif de 293 et 418 individus, Cette situation s'expliquerait par la présence d'un couvain bien développé dans cette période, En revanche, la présence du couvain réduit après les traitements (03) et (04) s'expliquerait par la présence de l'acarien qui se trouve à cette période sur l'abeille, L'acarien se trouvera ainsi exposé aux effets de l'huile essentielle du thym à la dose de 0,3%, ce qui expliquerait l'augmentation des effectifs.

IV-3-1-2-4- Lot traité à 0,5% d'huile essentielle de thym (lot4)

L'application du traitement à la dose de 0,5% a présenté une faible mortalité dans les deux premiers traitements avec un effectif de 730 et 454 individus. Ce résultat pourrait être attribué à une présence intensive du couvain fermé durant cette période, La mortalité a atteint un pic (1550 individus) après le traitement (03). Cette augmentation importante laisse supposer que le traitement à la dose de 0,5% détruirait le maximum des varroas du couvain et expliquerait la réduction de sa surface durant cette période.

La diminution de la mortalité de varroa après le traitement (04) avec une réduction de couvain fermé s'explique par la réduction du varroa existant dans la colonie grâce à l'effet d'huile essentielle de thym à la dose de 0,5%, Ainsi, elle continue à neutraliser ce parasite même après le cinquième (05) traitement.

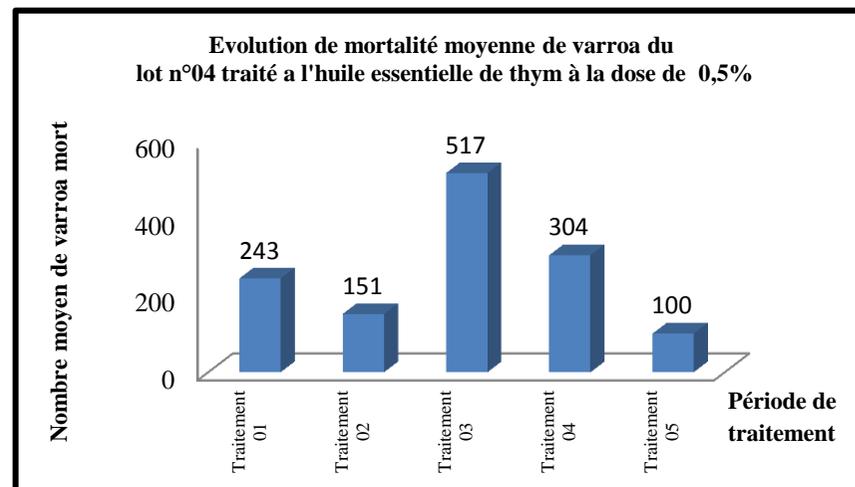
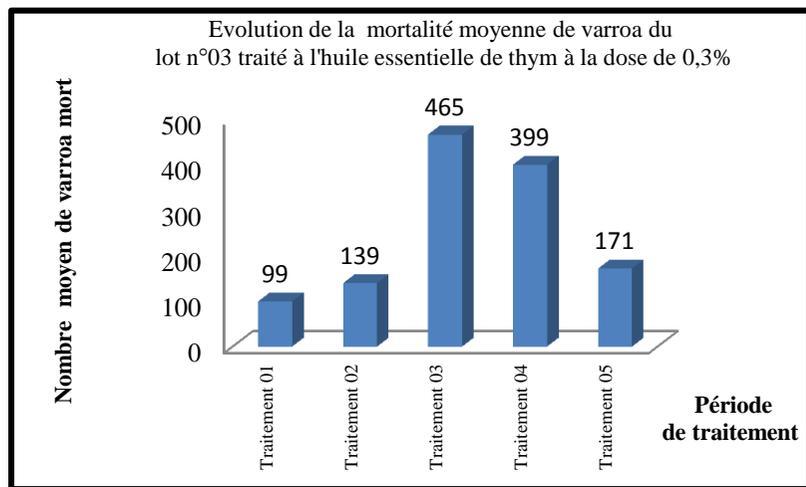
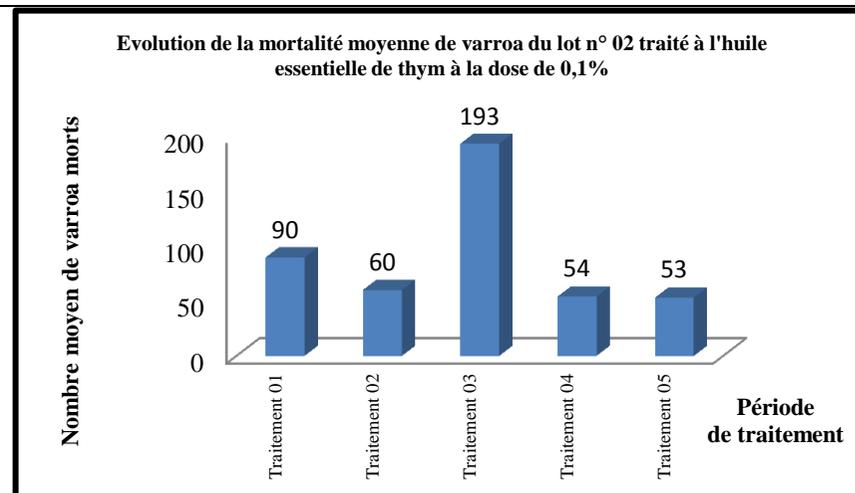
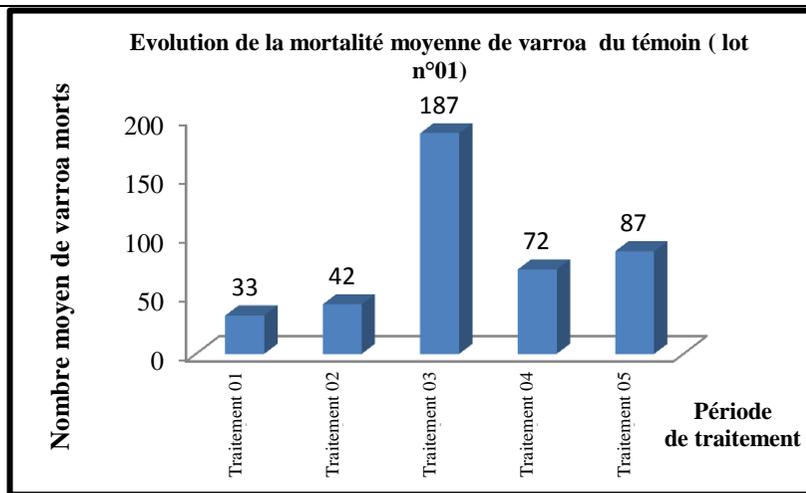


Figure 40 : Evolution de la mortalité du varroa des quatre lots

IV-3-1-2-5- Evolution de la mortalité du *V,destructor*

Les résultats des mortalités moyennes du varroa sont illustrés par la figure 41 et présentés dans l'annexe 10,

L'annexe 11 montre que l'effet acaricide est positif sur le *Varroa destructor* chez les lots 03 et 04 avec une certaine supériorité montrée par le lot 04 « 1324 individus », Les résultats obtenus pour le lot N°02 ont montré des similitudes avec le lot témoin en présentant un faible effectif, Sur la base de ces résultats, il apparaît que le traitement à l'huile essentielle de thym à la dose de 0,1% n'aurait aucune influence sur le varroa,

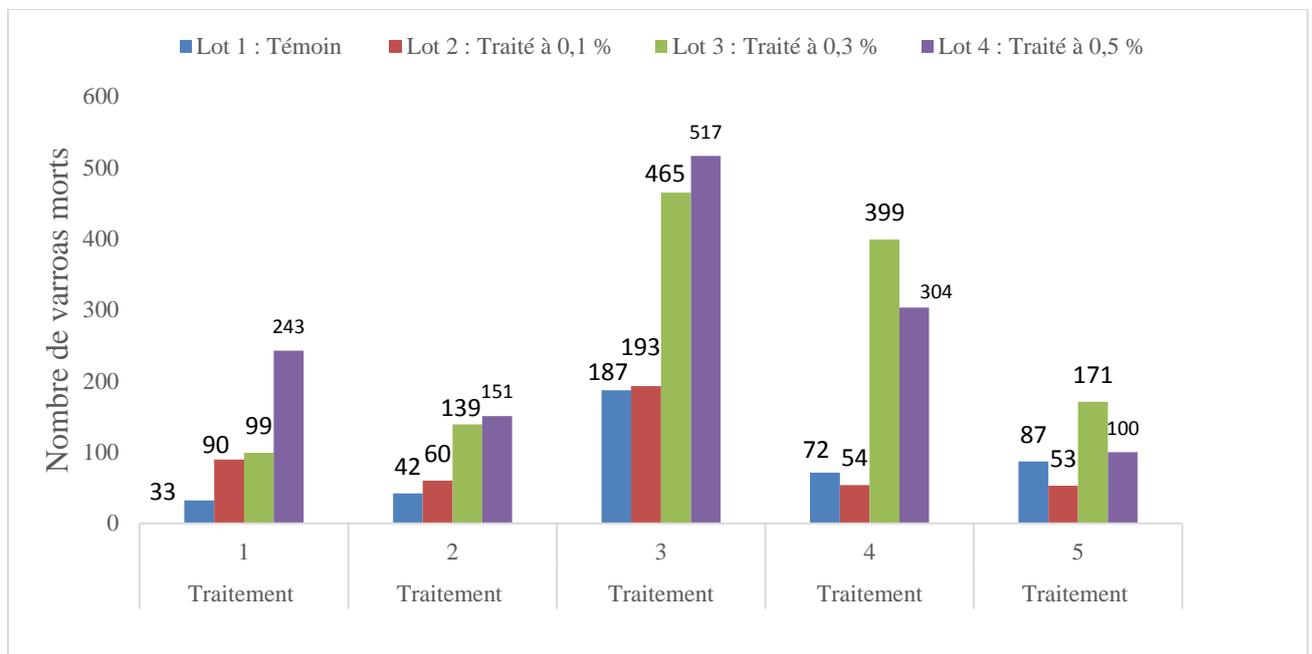


Figure 41: Evolution de la mortalité moyenne des quatre lots durant la période de traitement avec HETA

IV-3-1-3-Détermination du taux d'infestation des colonies d'abeilles par le varroa après le traitement par pulvérisation des HEs,

Dans le but de dégager l'effet des traitements appliqués aux 4 lots de colonie d'abeilles, la méthode de diagnostic du taux d'infestation décrite précédemment a été utilisée durant la période estivale,

Les résultats présentés dans le tableau **XXI** montrent que les pourcentages de réduction du varroa ont été respectivement de 4,1% ; 8% ; 32,40 et 32,62% dans les lots des colonies témoin traitées à des doses 0,1% ; 0,3% et 0,5% avec l'huile essentielle de thym, L'utilisation possible des huiles contre le varroa dans les colonies d'abeilles en tant que traitements est à discuter.

Tableau XXI : Détermination du taux d'infestation des colonies d'abeilles par le varroa après le traitement par pulvérisation des HES

N° de la ruche		Nombre totale de varroa morts après le traitement (A)	Mortalité journalière de varroa (B)	Population de varroa estimée (C)	Surface de couvain (cm ²)	Population d'abeilles estimée (P)	Taux d'infestation (%)	Taux d'infestation moyen (%)
Lot n° 01	R1	345	6	540	6393	16138,5	3,35	4,10
	R2	45	1	90	885	2234	4	
	R3	128	2	180	1424	3595	5	
Lot n° 02	R4	949	17	1430	3706	9355,4	16,35	08
	R5	237	5	450	3588,5	9059	5	
	R6	119	2	180	2661	6717,4	2,68	
Lot n° 03	R7	1731	30	2700	3025	7636,28	35,36	32,40
	R8	1605	28	2520	2719	6864	36,71	
	R9	487	9	810	1277	3224,6	25,12	
Lot n° 04	R10	2231	39	3510	2382	6013	58,37	32,62
	R11	684	12	1080	1418	3580	30,16	
	R12	1182	21	1890	8104	20457,66	9,23	
Σ		9743	172	15380	37582,5	94875	231,33	93,15
X±σ		812±729,24	14 ±12,67	1281,67±112	3132±216	7906,24±545	19,28±18	23,29±13,40

$$B = A/57 \quad (C = B*90) \quad (d^{\circ}I_0 = C/P)$$

A : Nombre totale de varroa morts après le traitement B : Mortalité journalière de varroa C : Population de varroa estimée
P : Population d'abeilles estimée d°I₀ : Taux d'infestation (%) R1...,R12 : Ruche

IV-3-1-4- Discussion des résultats

Le diagnostic de la présence de l'acarien *Varroa destructor* dans un rucher a révélé l'existence de l'acarien dans toutes les ruches, Toutes les colonies de la ruche ont été

parasitées par l'acarien *Varroa* et ont présenté un degré d'infestation variable de 1,4 à 34%, Aussi, il existe une corrélation entre le nombre de varroas collectés quotidiennement et la population totale dans la colonie, La population d'acariens peut être estimée tout au long de l'année en multipliant la chute quotidienne des acariens par : 250 - 500 ou 20 - 40 lorsque la couvée est absente ou présente comme le souligne Martin (1998).

Afin d'assurer la survie de la colonie l'année suivante, un traitement anti-*Varroa* serait impératif, Certains auteurs, à l'image de Kozac et *al*, (2012), préconisent des périodes critiques d'intervention pour l'industrie apicole, Pour réduire le seuil d'infestation à 50 acariens, il serait nécessaire que le traitement acaricide soit effectué en août, avant la reproduction de la couvée d'abeilles hivernales, comme le conseil également Noireterre (2011).

Afin de déterminer l'effet des doses de traitement sur la ponte de la reine, le calcul de la surface de la couvée reste nécessaire, Les huiles essentielles ont été diluées avec de l'éthanol à concentrations de 0,1 ; 0,3 et 0,5%, v / v, Les résultats des traitements sont représentés par la figure 1, Le lot D a présenté une surface de couvée très élevée « 1147 cm² », suivi du lot B « 913 cm² », du lot A « 903 cm² » et du lot C « 447,5 cm² » respectivement, Les ruches traitées par HETA (0,5%) ont présenté la meilleure zone de couvain avec une évolution de 925 - 1147 cm² correspondant à une augmentation de 225 cm², Cela signifierait que ce traitement n'aurait eu aucun effet négatif sur l'activité de la colonie d'abeilles et celle de la ponte de la reine.

En ce qui concerne la durée d'application du traitement, la différence n'est pas statistiquement significative ($p = 0,4123$).

En définitif, il est à signaler que le traitement n'aurait pas perturbé la population de la ruche, La couvée est restée compacte et les éclosions se sont poursuivies normalement indiquant ainsi, la sécurité que procurent les huiles essentielles pour les abeilles de la colonie, En revanche, Le traitement avec HETA n'a eu aucune influence sur l'activité des abeilles et la ponte de la reine (Fig, 42).

L'application de l'HETA, en hiver (du 14/01 au 16/03) a réduit l'infestation de divers lots infectés par *V. destructor*, Les résultats après traitements à différentes concentrations sont rapportés par la figure 43, Les taux de diminution des infestations obtenus étaient de : A (4,1%), B (24,0%), C (32,4%) et D (32,6%), équivalents d'un nombre moyen d'acariens morts : A (173), B (435) C (1274) et D (1366).

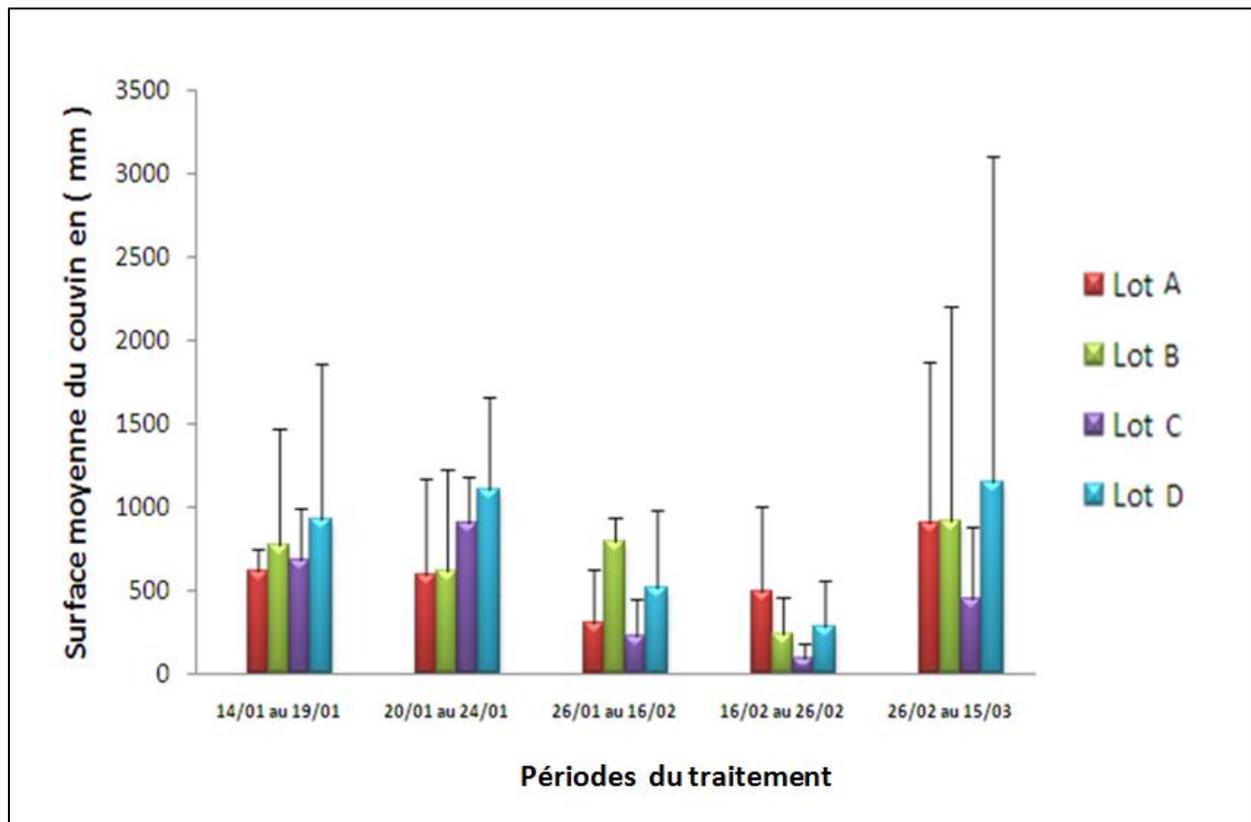


Figure 42: Surface moyenne des couvées pendant la période de pulvérisation par les huiles essentielles de *T. algeriensis* (HETA) à différentes doses : 0,1% ; 0,3% ; 0,5% et témoin.

Lot A: témoin (colonies non traitées), lot B: HETA (0,1%); Lot C: HETA (0,3%); Lot D: HETA (0,5%).

Concernant la dose de traitement, il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les quatre lots, L'analyse statistique a montré que le traitement des lots A et B n'a pas eu d'effets sur la mortalité du *Varroa*, En revanche, il a été très significatif pour les lots C et D, Ceci dénote l'efficacité du traitement par la concentration de HETA à 0,5%, Il existe une forte corrélation entre le nombre d'acariens morts et les concentrations des huiles testées, Une explication possible de ce résultat serait la présence du carvacrol et du thymol comme composants majeurs et l'effet synergique avec d'autres monoterpènes, tels que le p-cymène, et le γ -terpinène, En effet, des études antérieures ont montré que le carvacrol était acaricide contre plusieurs espèces de tiques, alors que le carvacrol et le γ -terpinène agissaient comme acaricides (IORI *et al.*, 2005). Le thymol et des composés structurellement apparentés tels que le p-cymène serait efficaces comme acaricides, il aurait une activité acaricide contre le *Varroa* mais en diminuant la ponte de la reine comme le concluent Burley *et al.*, (2008), Le γ -terpinène, une autre substance active de l'huile de thymus, aurait un très bon effet varroacide, Cependant, l'utilisation d'une huile de *Thymus* contenant du γ -terpinène à une concentration

de 250 µg/l d'air s'est révélée très toxique à la fois pour *V. destructor* et pour les abeilles tel que rapporté par Imdorf et al., (1999).

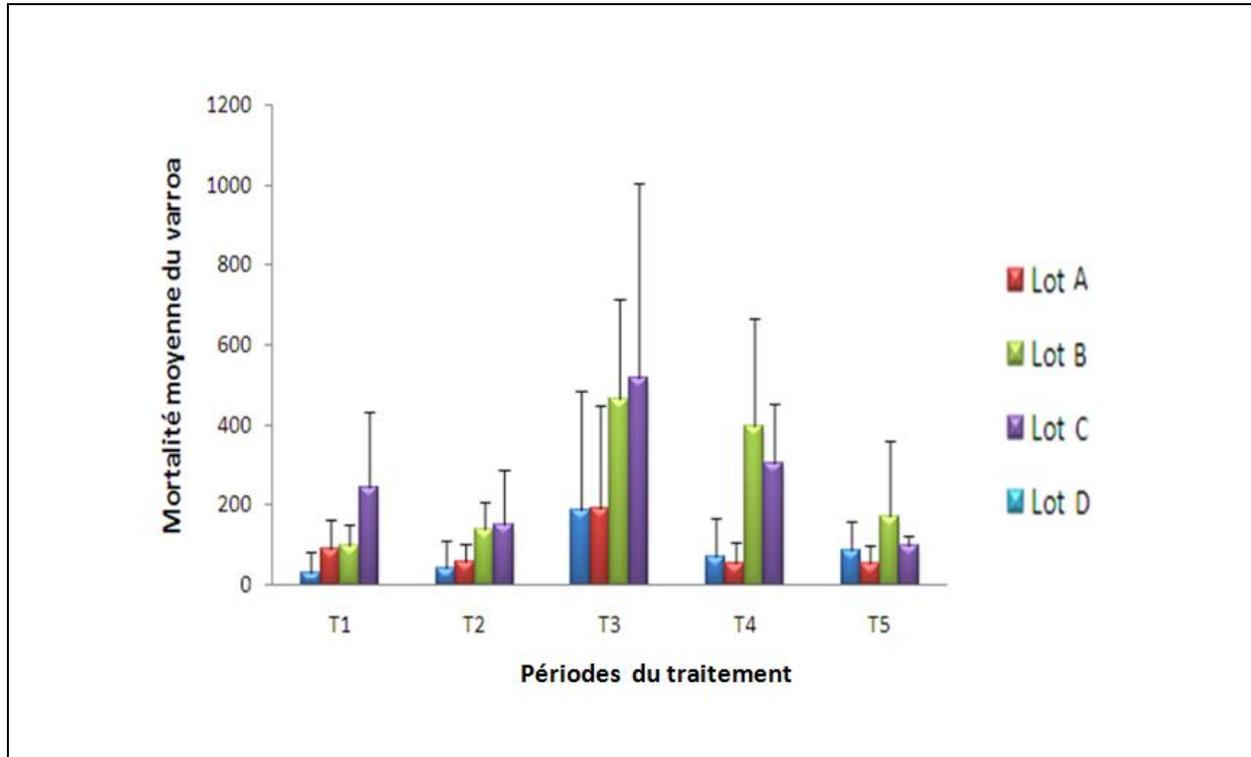


Figure 43 : Mortalité moyenne de Varroa pendant la période de pulvérisation par les huiles essentielles de *T. algeriensis* (HETA) à différentes doses : 0,1%; 0,3%; 0,5% et témoin.

Lot A: témoin (colonies non traitées), lot B: HETA (0,1%); Lot C: HETA (0,3%); Lot D: HETA (0,5%)

Par ailleurs, la troisième application de HETA (0,5%) a présenté le taux de mortalité le plus important « 340 acariens » au cours du traitement, L'analyse statistique a révélé également que cette application ($p = 0,012$) correspond au stade phorétique de l'acarien Varroa, Pendant la période de la ponte de la reine et de développement du couvain, la mortalité naturelle du Varroa diminue, Ce résultat semble être cohérent avec la littérature (Bruneau, 2005). En outre, il est légèrement supérieur à celui obtenu par pulvérisation d'acide oxalique à 0,56 g par colonie sur des abeilles ouvrières adultes, où un taux de mortalité des acariens au stade phorétique de 25,9% a été observé par Scandian et Ratnieks (2015).

Ainsi, le taux de mortalité est beaucoup plus élevé que celui obtenu en appliquant, pendant 12 jours, un extrait de *Lantana camara*, lorsque le taux d'infestation a été réduit à 0,20% (Zaitoun et Madkour, 2012), Le traitement avec *Citrus aurantium* et *Cymbopogon flexuosus* a réduit le pourcentage moyen d'infestation par Varroa de 100% après la quatrième

semaine comme le rapportent Abd El-Wahab et *al.*, (2012). Cependant, la pulvérisation d'huiles de thym a entraîné la mort de 65,9% de *Varroa* dans les travaux de Hamaad et *al.*, (2008). À la fin de l'automne, l'acarien *Varroa* est très sensible aux huiles essentielles en raison de la formation d'une grappe et de l'absence de couvain (Noel et Amrine, 1996), Lorsque la plage de température externe est comprise entre 15 et 20 °C, certains auteurs recommandent l'application de produits contenant du thymol, car au-delà de cette plage, la température extérieure affecte négativement l'efficacité de l'activité du thymol et de l'abeille comme l'ont conclu Imdorf et *al.*, (1999) dans des travaux précédents, Ces conditions se rapprochent de celles de notre étude et dans les conditions climatiques de l'Algérie à la fin de l'hiver avec des températures comprises entre 12 à 19°C. Il s'ensuit que l'application, en hiver, de l'huile essentielle de *T. algeriensis* par pulvérisation à l'intérieur des ruches est très efficace contre l'infestation par *V. destructor* et pour maintenir l'activité des colonies d'abeilles et la ponte de la reine.

L'huile essentielle, testée ici, est prometteuse dans l'usage possible contre l'acarien ectoparasite d'*Apis mellifera*, vu qu'elle peut engendrer une forte mortalité chez ce ravageur et pendant tous les stades de son développement, tout en étant des produits naturels à faible effet sur l'environnement.

L'huile essentielle de *T. algeriensis* peut, de ce fait, être suggérée comme une alternative importante pour le contrôle de *V. destructor* afin de pallier les problèmes environnementaux et de santé générés par l'usage intensif de ces produits chimiques, cette huile est riche en sources de composés bioactifs biodégradables. Le carvacrol, le thymol, le p-cymène et γ -terpinène sont les principaux composés de l'huile essentielle de *T. algeriensis* et peuvent agir en synergie pour produire l'action acaricide observée contre *V. destructor*, Le traitement par HETA à 0,5%, appliqué dans les conditions climatiques de l'Algérie à la fin de l'hiver, serait efficace contre l'acarien *V. destructor* et n'aurait aucune influence sur l'activité des abeilles et celle de la ponte de la reine.

IV-3-2-Traitement par fumigation

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'activité acaricide du *T. algeriensis* et de l'*O. vulgare* par la méthode prophylactique : la fumigation, Cette méthode semble être intéressante dans la lutte contre la varroase car la matière fumigène placée dans l'enfumoir (50 g) doit se consumer sous une forte source de chaleur et le plus rapidement possible.

Les différentes ruches qui constituent le lot traité ont reçu des fumées pendant 5mn par trou de vol d'un seul côté, Par contre, le côté opposé était bouché au moyen de papier journal et ce pour permettre à la fumée de se diffuser à l'intérieur de la ruche.

IV-3-2-1-Détermination du taux d'infestation initial des colonies

Les résultats de diagnostic de la mortalité naturelle sont regroupés dans le tableau **XXII**,

Tableau XXII : Détermination du taux d'infestation initial.

N° de la ruche	Nombre totale de varroa morts après un mois (A)	Mortalité journalière de varroa (B)	Population de varroa estimée (C)	Surface de couvain (cm ²)	Population d'abeilles estimée (P)	Taux d'infestation initiale (%)
H 1	51	2	158	5250	13253	1
H 2	120	4	372	2176	5493	7
H 3	836	29	2594	4900	12369	21
H 4	485	17	1505	8619	21757	7
H 5	394	14	1223	1710	4317	28
H 6	228	8	708	5528	13954	5
H 7	91	3	282	7156	18064	2
H 8	149	5	462	5953	15027	3
H 9	399	14	1238	4578	11558	11
H10	587	20	1822	2496	6300	29
X ± δ	334,00 ± 253,21	11,52 ± 8,73	1036,55 ± 785,82	4836,44 ± 2210,58	12209,07 ± 5580,36	11,35 ± 10,73

$$B = A/29 \quad (C = B \cdot 90) \quad (d \cdot I_0 = C/P)$$

A : Nombre totale de varroa morts après un mois B : Mortalité journalière de varroa C : Population de varroa estimée
P : Population d'abeilles estimée d°I₀ : Taux d'infestation J : Jour H1..., H10 : Ruche

Les résultats obtenus (tableau XXII), montrent que toutes les colonies du rucher sont parasitées par le varroa et présentent un degré d'infestation variable de 1 à 29% respectivement pour les ruches N°1 et 10, soit une moyenne de 11,35%, Ceci dénote une hétérogénéité dans l'infestation des ruches.

Nos résultats concordent avec ceux de Robaux (1986) réalisés sur un rucher dans le but de démontrer les variations des taux d'infestations causés par le varroa, Ainsi :

- 03 ruches ont un taux d'infestation inférieur à 5%, C'est des colonies faiblement parasitées sans risque immédiat et ne requièrent aucun traitement d'urgence,
- 03 ruches infestées à des taux compris entre 5 et 10% ; les colonies sont sérieusement atteintes et nécessitent un traitement.

- 01 ruche présentant un taux d'infestation entre 10 et 20% ; la colonie est fortement atteinte.
- 03 ruches ont un taux d'infestation compris entre 20 et 30%, Celles-ci ont une probabilité de s'effondrer au bout de quelques jours, voire quelques semaines.

IV-3-2-2-Traitement par fumigation du thym et de l'Origan

IV-3-2-2-1- Calcul de la surface du couvain

La figure 44 illustre les résultats des surfaces du couvain des trois lots et montre qu'il y'a une diminution progressive de la surface moyenne du couvain après le deuxième comptage pour le lot témoin, Cette diminution s'expliquerait par :

- Une oscillation de la température après le deuxième comptage entre 24 et 31°C et entre 25 et 36°C après le quatrième comptage.
- La présence de cadres contenant des couvains mâles comme pour la ruche H18 en plus d'une anomalie de ponte qui indique l'existence d'une vieille reine, ce qui agirait sur la force de la colonie.
- Les colonies qui deviennent bourdonneuse à l'image de la H19 vers la fin de l'expérimentation, Ceci serait en relation avec l'existence de fausse reine et qui expliquerait la réduction de couvain dans cette colonie.

Les résultats du traitement par fumigation au thym montrent une fluctuation de la surface du couvain où nous avons observé une diminution de cette dernière par différence de 435,67cm² pendant la période du 31/05/2012 au 06/06/2012, Durant cette période, la ponte s'arrête momentanément dans la ruche H23, puis elle augmente jusqu'à 1491,7 cm² durant la quatrième semaine du traitement et suivie par une diminution jusqu'à 1261,11 cm², Ces variations de la surface du couvain seraient dues aux changements climatiques, surtout la température, En effet, les moments de réduction ont coïncidé avec des périodes chaudes où la température a dépassé les 24°C, Cette dernière provoquerait le blocage de la ponte de la reine, Ceci pourrait nous mener à dire que le traitement par fumigation au thym n'aurait aucun effet néfaste sur le développement du couvain.

Les données de traitement par l'origan relatives aux surfaces du couvain montrent qu'il y'a une réduction progressive de la surface après le deuxième traitement, Ici, nous avons constaté des températures élevées pendant quelques jours, mais le prétexte principal de cette diminution est l'absence de couvain dans le nucléé H32, Ceci serait causé par

l'absence de la reine que nous avons perdue au moment de la manipulation des traitements, Nous avons remarqué aussi que la colonie H34 est forte et à une bonne activité, A partir de ces observations, nous pouvons avancer que le traitement par fumigation à l'origan n'aurait aucun effet néfaste sur le développement du couvain.

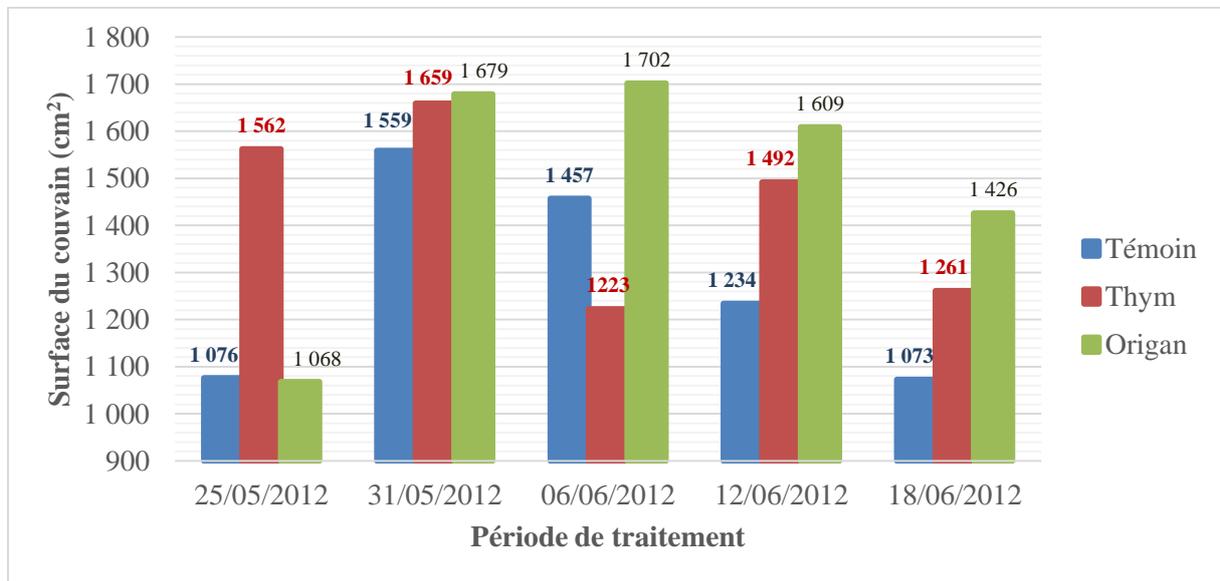


Fig. 44 : Evolution des surfaces des couvains des trois lots en fonction de la période de traitement

Les résultats obtenus (Figure 44), montrent que le type de traitement utilisé dans cette expérimentation (fumée de thym et d'origan) n'agit pas sur l'évolution de la surface du couvain, Cependant, toutes les colonies demeurent influencées par l'activité de la colonie d'abeille ; le potentiel de la reine et l'élévation de la température.

IV-3-2-2-2-Mortalité du *V.destructor*

Le nombre de varroas morts naturellement (tableau XXIII) varie avec le temps et d'une ruche à un autre, Cette variabilité serait liée à l'activité de la colonie, la moyenne de chute la plus élevée (9) est présente dans la ruche H12, Cette dernière renferme des couvains mâles, les préférés du *V. destructor*.

La mortalité des varroas a une évolution parallèle à celle du couvain, elle augmente progressivement de 05 individus en début d'expérimentation jusqu'à 27,67 individus durant la période allant du 06 au 09 juin, La mortalité a chuté jusqu'à 6 individus par la suite, en raison de la réduction du couvain,

Tableau XXIII : mortalité naturelle moyenne du varroa du lot témoin

Date Ruche	Nombres de varroas morts											
	22- mai	25- mai	28- mai	31- mai	03- juin	06- juin	09- juin	12- juin	15- juin	18- juin	total	Moy,jr
H11	0	2	1	7	2	4	17	6	6	9	54	1,80
H12	6	13	4	45	45	43	62	4	15	26	263	8,77
H13	8	26	31	17	27	6	4	7	6	8	140	4,67
H14	9	25	27	42	37	15	23	8	11	9	206	6,87
H15	5	10	4	26	41	38	42	6	19	16	207	6,90
H16	1	3	1	9	6	3	17	5	4	6	55	1,83
H17	4	13	5	15	19	23	36	9	14	9	147	4,90
H18	3	11	7	13	23	15	35	4	17	19	147	4,90
H19	7	9	12	10	11	7	17	3	15	23	114	3,80
H20	7	25	28	46	36	18	24	8	16	12	220	7,33
Σ	50	137	120	230	247	172	277	60	123	137	1553	51,77
X± δ	5,00	13,70	12,00	23,00	24,70	17,20	27,70	6,00	12,30	13,70	155,30	5,18
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2,98	8,83	11,95	15,65	15,09	13,93	16,48	2,00	5,25	6,93	69,46	2,32

H11....., H20 : Numéro de la ruche

IV-3-2-2-1-Mortalité du *V. destructor* après traitement par la fumée de Thym

La mortalité des **varroas** dans le lot n° 01, traité par la fumée de thym, a été faible suite au premier traitement (8 individus), et plus importante lors des deuxième et troisième traitement, Ces derniers ont provoqué des moyennes de mortalité de 28,70 et 36,30 individus respectivement (Tableau XXIV), Cette augmentation pourrait s'expliquer par l'émergence de jeunes abeilles de leurs cellules, et par conséquent, la libération des jeunes varroas qui ont été protégés dans le couvain, Les autres applications ont provoqué une mortalité échelonnée entre 5 et 14 individus.

IV-3-2-2-2-Mortalité du *V. destructor* après traitement par la fumée de l'Origan

La mortalité des varroas est importante lors de la première application de fumée d'origan (tableau XXV) avec un maximum d'efficacité de 29 individus, Ceci serait due à la présence d'un couvain réduit, En revanche, pour les autres traitements, où le couvain est abondant, la diminution de la surface de couvain après le septième traitement réduit la population de varroa en raison de la faible mortalité enregistré enfin d'expérimentation.

Tableau XXIV, Mortalité moyenne du varroa traité par la fumée de thym

Date Ruche	Nombres de varroas morts											Moy,jr
	22- mai	25- mai	28- mai	31- mai	03- juin	06- juin	09- juin	12- juin	15- juin	18- juin	total	
H21	19	46	67	20	9	21	26	23	13	7	251	8,37
H22	5	32	10	8	7	4	16	2	1	2	87	2,90
H33	0	8	32	11	6	3	0	4	4	7	75	2,50
H24	4	29	45	17	9	15	20	14	10	7	170	5,67
H25	9	28	38	12	6	2	5	8	2	3	113	3,77
H26	10	34	42	16	9	13	17	9	7	5	162	5,40
H27	7	33	38	12	4	3	9	7	3	4	120	4,00
H28	2	19	27	9	5	9	15	9	7	6	108	3,60
H29	11	20	31	10	8	8	13	6	3	3	113	3,77
H30	13	38	33	15	10	15	19	15	10	9	177	5,90
Σ	80	287	363	130	73	93	140	97	60	53	1376	45,87
X± δ	8,00	28,70	36,30	13,00	7,30	9,30	14,00	9,70	6,00	5,30	137,60	4,59
	±	±	±	±	±	±	13,11	±	±	±	±	±
	5,64	10,76	14,50	3,86	2,00	6,48	7,62	6,15	4,03	2,26	52,63	1,75

H21..... H30: Numéro de la ruche

Tableau XXV : Mortalité moyenne du varroa dans le lot traité par la fumée de l'origan

Date Ruche	Nombres de varroas morts											Moy,jr
	22- mai	25- mai	28- mai	31- mai	03- juin	06- juin	09- juin	12- juin	15- juin	18- juin	total	
H31	31	5	17	7	6	9	2	1	0	0	78	2,60
H32	9	10	4	4	6	7	10	4	10	4	68	2,27
H33	48	15	11	12	20	27	45	9	7	18	212	7,07
H34	8	3	9	8	10	12	16	3	2	3	74	2,47
H35	38	9	13	6	15	12	20	6	4	0	123	4,10
H36	24	8	11	9	12	17	19	5	7	13	125	4,17
H37	33	7	8	7	6	10	13	4	5	6	99	3,30
H38	37	9	12	9	12	18	19	5	7	14	142	4,73
H39	24	6	10	8	7	9	13	2	5	2	86	2,87
H40	41	11	12	7	13	22	33	8	10	13	170	5,67
Σ	293	83	107	77	107	143	190	47	57	73	1177	39,23
X± δ	29,30	8,30	10,70	7,70	10,70	14,30	19,00	4,70	5,70	7,30	117,70	3,92
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	13,17	3,37	3,40	2,11	4,64	6,50	12,13	2,50	3,20	6,58	46,68	1,56

H31..... H40 : Numéro de la ruche

IV-3-2-2-2-3-Comparaison des mortalités du *Varroa destructor*

La comparaison de la mortalité moyenne entre les trois lots est illustrée par la figure 45 .

La moyenne de la mortalité journalière dans le lot traité par la fumée du thym est de 4,59 individus/j, Elle est supérieure à celle du lot traité par la fumée d'origan (3,92 individus/j). Toutefois, elle demeure inférieure à celle dans le lot non traité (présence du couvain mâle). Ce dernier est parasité à environ 17 fois plus que celui des ouvrières et par conséquence, une augmentation de la population des varroas. Ceci expliquerait la chute naturelle élevée du lot témoin.

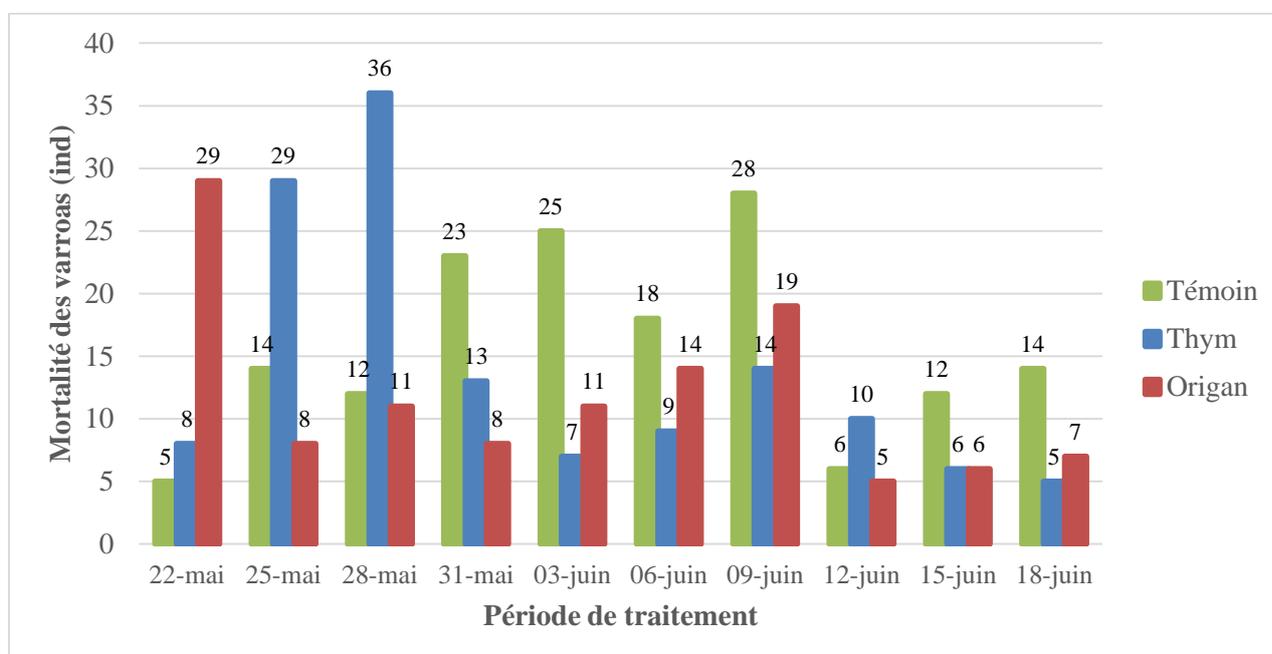


Fig. 45 : Evolution des mortalités moyennes du varroa dans les 03 lots durant l'année 2012

IV-3-2-2-3- Déterminations du taux d'infestation après traitement,

Dans le but de déterminer les traitements appliqués qui ont réduit les taux d'infestation par le varroa, la même méthode de diagnostic naturel décrite précédemment a été utilisée.

Ainsi, le taux d'infestation final des trois lots a atteint une moyenne de 2,33% pour le lot n° 01, 4,33% pour le lot n° 02 et 3% pour le lot n°03 (Tableau XXVI).

Ces résultats montrent que le taux d'infestation final est faible par rapport à l'initial (11,35%), Ce dernier a subi auparavant une réduction causée par l'essaimage, En effet,

Sebastien et *al.*, (2012) expliquent ce résultat par le fait que les nouvelles colonies diminuent la population des acariens.

Discussion

D'un point de vue statistique, l'analyse de la variance a révélé que, pour le facteur fumé de thym et d'origan et facteur période d'application, il n'ya pas de différences significatives, ($P = 0,8632 > 0,005$), Ceci montre que la nature et les périodes des traitements n'agissent pas sur la surface du couvain.

L'analyse de la variance montre également que le facteur fumée de thym et d'origan et facteur période d'application ne présente pas de différences significatives ($P = 0,5705 > 0,005$), ce qui prouve que le traitement appliqué n'a aucune influence sur la mortalité du varroa.

Tableau XXVI, Détermination du taux d'infestation final

Lot	N° de ruche	Nombre de varroas morts après 1 mois	Mortalité moyenne/Jr (B)	Population des varroas estimée (C)	Surface des couvains en (cm ²)	Population des abeilles estimée (P)	Taux d'infestation finale (%)	Taux d'infestation moyenne (%)
Thym	H1	251	8,37	753,3	11607,82	29302,67	3	2,33
	H3	87	2,9	261	4883,1	12326,85	2	
	H5	75	2,5	225	5099,57	12873,30	2	
Origan	H2	78	2,6	234	1262,87	3187,98	7	4,33
	H4	68	2,27	204,3	17337,07	43765,53	0,50	
	H7	207	6,9	621	3854,67	9730,69	6	
Témoin	H6	55	1,83	164,7	6849,92	17291,87	1	3,00
	H8	271	9,03	812,7	6493,35	16391,75	5	
	H9	141	4,7	423	5851,31	14770,99	3	
X ± δ		137 ± 84,54	4,57 ± 2,82	411 ± 253,62	7026,63 ± 4 751,05	17737,99 ± 11 993,51		

A : Nombre des varroas morts après un mois ; **B** : Mortalité moyenne par jour ; **C** : Population des varroas estimés ; **P** : Population des abeilles estimées ; **J** : Jour ; **H1,H2.....H9** : Numero de la ruche

Le coefficient de variance quant à lui a été de 98,7 % supérieur à 25%, ceci dénote que d'autres facteurs pourraient agir sur la mortalité du varroa plus que le traitement, Ces facteurs qui entrent en jeu peuvent être externes comme la température et la pluviométrie, ou encore internes, tel que l'abondance des couvains, âge de la reine et les comportements de la colonie.

Les études conduites lors de déclarations de mortalité hivernale ont montré

l'importance des agents infectieux dans ce type de mortalité, L'acarien *Varroa destructor* ainsi que les méthodes de lutte peu efficaces contre cet agent pathogène apparaissent comme un facteur de risque majeur de mortalité hivernale des colonies d'abeilles (Chiron et Hattenberger, 2009).

Quant au traitement par le thym, il ressort clairement que le traitement par fumigation a engendré une mortalité importante de varroa lors de la deuxième et troisième application (du 24 au 26 Mai). Cette période a coïncidé avec l'émergence ou l'éclosion des jeunes abeilles de leurs cellules et donc la libération des varroas qui étaient fixés sur leurs corps et leur exposition aux fumées du traitement qui les ont neutralisés. En revanche, pour le traitement par la fumée d'origan, la mortalité est plus importante dès la première application avec 29 acariens morts, puis le nombre diminue pour atteindre 4,47. Pour ce qui est du lot non traité (témoin), en comparant la mortalité quotidienne à celle établie lors du diagnostic, il apparaît qu'elle est plus élevée, car en cette période de grandes chaleurs, les acariens deviennent plus vulnérables, Ces résultats concordent avec ceux de Robaux (1986), qui a constaté que durant cette même période, le taux de mortalité peut atteindre 68%.

Après le traitement par fumigation, le taux moyen d'infestation final du lot traité par le thym est de 2,33 % et de 4,33% pour le lot traité par l'origan, De ce fait, le traitement par fumigation a réduit le taux d'infestation initial de 11,35% à 2,33%, soit une diminution de 9,02 % pour le thym et de 7,02% pour l'origan, Par contre, pour le lot témoin, le taux d'infestation final est de l'ordre de 3%, soit une diminution 8,35 %.

L'analyse de la variance a montré que, pour le facteur fumée de thym, d'origan et facteur période d'application sont non significatives, Les analyses statistiques ont montré aussi que la variance est non significative entre les facteurs : *Thymus*, *origanum* et la période de traitement, Toutefois, la faible efficacité du traitement remonte à la présence des couvains operculés qui empêchent la pénétration des fumées de thym et d'origan comme le conclut Sammataro et *al.*, (2009).

Dans des études diverses, plus de 150 huiles essentielles différentes ont été testées pour des effets contre *V. destructor*, Cependant, seul l'huile de thym, de sauge et d'origan (Imdorf, 2006) ainsi que l'acide oxalique (Abdel-Rahman, 2004) ont prouvé une efficacité suffisante lors de l'application dans les colonies d'abeilles.

Toutefois, l'utilisation des huiles essentielles de la menthe pouliot, par fumigation a été étudiée sur *Tetranychus, Urticae* et ce, même à faible concentration (19µl/l d'air) (Choi et *al.*,

2004), En effet, ces derniers ont montré que les vapeurs de cette huile essentielle seraient capables d'éradiquer la totalité des œufs et des adultes de *Tetranychus Urticae* Koch traités. Toutefois, l'effet acaricide/insecticide des huiles essentielles extraites d'autres espèces de *Thymus* notamment *Thymus vulgaris*, a été largement étudié, Ainsi, selon El-Gengaihi et al., (1996), l'application de fortes concentrations de l'huile essentielle de cette plante pourrait provoquer une mortalité absolue chez *Tetranychus, urticae*, Egalement , une forte toxicité des huiles essentielles de *Thymus, vulgarisa* été observée chez les adultes de *T, urticae* traités par fumigation (Choi et al., 2004 ; Aslan et al., 2004) voire par contact (Pavela, 2016), Alors que ses applications contre la mouche blanche, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), utilisée comme fumigeant s'est montrée très efficace (Aslan et al., 2004).

Les travaux de Pavela et al., (2016) et Tunç & Sahinkaya, (1998) ont mis en évidence l'effet acaricide des huiles essentielles d'*O,compactum* et d'*O,syriacum* appliquées par fumigation sur les adultes de *T. urticae* et *T. cinnabarinus*. Les extraits aqueux d'*O. majorana* se sont également révélés efficaces contre *T, urticae* (Pavela, 2016) révélant l'infestation nulle des plantes lorsqu'elles sont traitées avec l'origan, Cela ne pourrait être expliqué que par la composition chimique de ces huiles , mélanges naturelles complexes, contenant de nombreux constituants à différentes concentrations (Pascual-Villalobus & Ballesta- Acosta, 2003).

IV-3-3-Traitement par ingestion (nourissement)

IV-3-3-1- Détermination du taux d'infestation initiale des colonies

Les résultats du diagnostic de la mortalité naturelle durant la période estivale sont regroupés dans le tableau XXVII, Toutes les colonies du rucher sont parasitées par le *V, destructor* présentent un degré d'infestation compris entre 1 et 27 % respectivement pour la ruche n° 01 et n°10, Il y'a une hétérogénéité du degré d'infestation pour l'ensemble des ruches, Sachant que les résultats établis par Robaux (1986) relatifs aux taux d'infestation des ruchers par le varroa.

Les résultats enregistrés se présentent comme suit :

- 03 ruches, ayant un taux d'infestation inférieur à 5%, pour lesquelles aucun danger immédiat n'est à craindre et aucun traitement d'urgence ne s'imposent.
- 03 ruches ayant un taux d'infestation compris entre 5 - 10%, les colonies sont sérieusement atteintes.
- 00 ruche présentant un taux d'infestation compris entre 10 - 20%, la colonie est fortement atteinte.

- 04 ruches ayant un taux d'infestation compris entre 20 - 30%, avec l'effondrement total de la colonie.

Tableau XXVII : Détermination du taux d'infestation initial,

N° de la ruche	Nombre de varroas morts après 01 mois	Mortalité moyenne/j B	Population de varroas estimée C	Surface des couvains (cm ²)	Population des abeilles estimée (P)	Taux d'infestation initiale (%)
E1	83	3	258	7916	20122	1
E2	162	6	503	5422	13783	4
E3	417	14	1294	5713	14522	9
E4	613	21	1902	2754	7001	27
E5	47	2	146	6124	15567	1
E6	113	4	351	2322	5903	6
E7	882	30	2737	4824	12263	22
E8	436	15	1353	2175	5529	24
E9	329	11	1021	1787	4543	22
E10	283	10	878	5710	14515	6
X ± O	337 ± 262,85	12 ± 9,06	1044 ± 815,73	4475 ± 2074,95	11374,69 ± 5274,52	12,32 ± 10,49

B= A/57 (C= B*90) (d°I₀=C/P)

A : Nombre totale de varroa morts après un mois **B** : Mortalité journalière de varroa **C** : Population de varroa estimée
P : Population d'abeilles estimée **d°I₀** : Taux d'infestation (%) **J** : Jour

La présence de l'acarien *Varroa destructor* dans le rucher nous a conduit à continuer notre recherche par l'utilisation des bio acaricides durant la période hivernale sous forme de nourrissage.

IV-3-3-1-1- Comptage des varroas

La chute naturelle du varroa passe de 82,7 varroas lors du premier comptage à 12 varroas à la fin du comptage. Cette diminution est due à la réduction de la surface du couvain. La chute du *V. destructor* pendant la période estivale varie de 47 à 882 acariens, soit un total de 337 ±262,85 pendant une période de 29 jours (soit une moyenne de chute par jour de 12 acariens).

IV-3-3-1-2- La surface du couvain

L'évolution de la surface du couvain dans chaque ruche en cm²/3j tous les 3 jours) montre qu'il y'a une chute accélérée de la surface du couvain (figure 46). Elle est de l'ordre de 1002,21cm² du 25/08/2011 au 12/09/2011, soit 18 jours. Cette période coïncide avec des températures variables entre 24°C - 30°C, ce qui provoque le blocage de la ponte de la reine

d'une part et la diminution de la population d'abeilles d'autre part. Notons qu'il y'a une baisse constante de la surface du couvain jusqu'à 400 cm²; jusqu'à l'obtention d'une certaine stabilité durant la période allant du 06/09/2012-08/09/2011 (diminution de la température). La tendance de la baisse continue parallèlement avec le retour des hautes températures qui provoquent le blocage de la ponte de la reine.

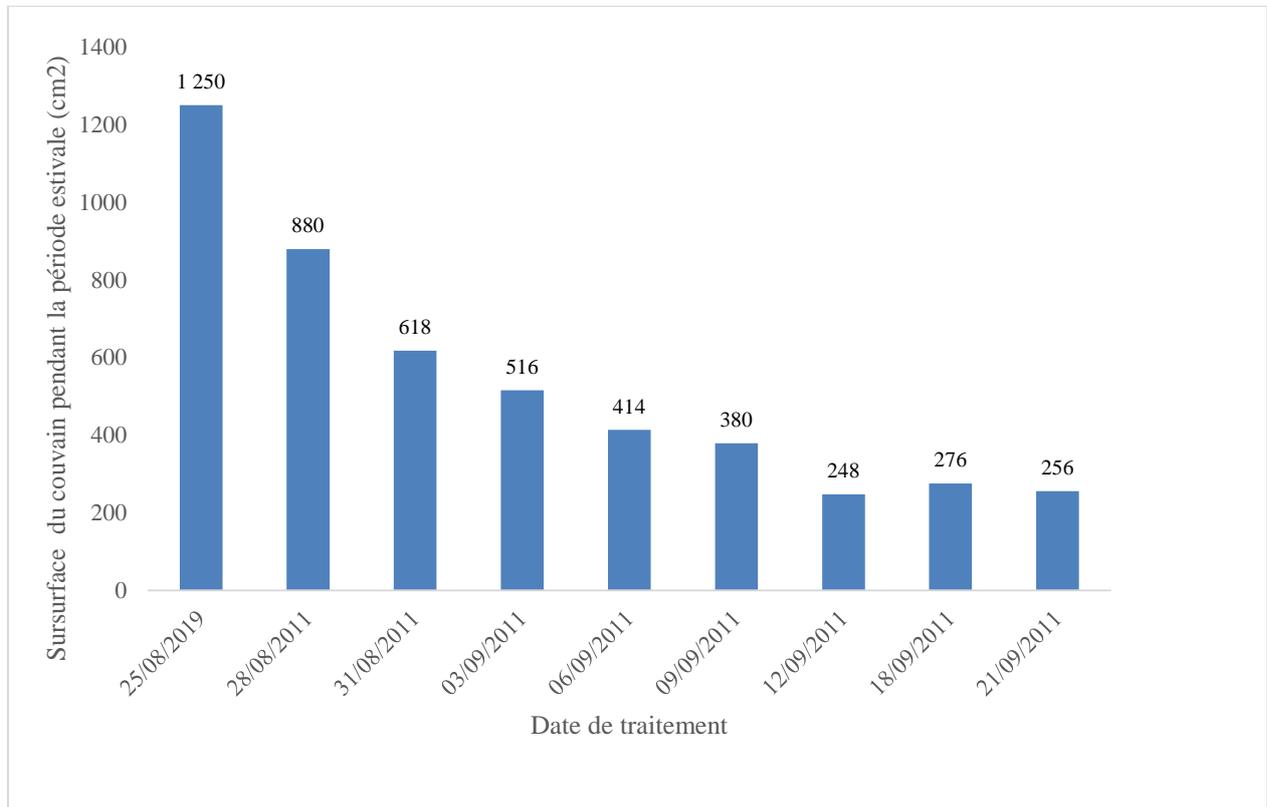


Fig. 46 : Evolution de la surface moyenne du couvain (cm²) pendant la période estivale durant l'année 2011,

IV-3-3-2- Traitement par ingestion durant la période hivernale

IV-3-3-2-1- Consommation du sirop par les abeilles

IV-3-3-2-1-1-Consommation du sirop par les abeilles du lot témoin

Les colonies d'abeilles ont consommé tout le sirop distribué (Tableau XXVIII), Cependant, au niveau de la ruche E7 la quantité de sirop consommé a diminué en raison de la régression de la population des abeilles après une période de froid jugée très difficile (chute de neige).

IV-3-3-2-1-2- Consommation du sirop à base de thym

Les colonies du lot N°2 consomment plus que les deux tiers du sirop distribué avant le 07/02/2012, Cette consommation a enregistré une diminution en raison de la régression de la population (Tableau XXIX).

Tableau XXVIII : Consommation moyenne du sirop sucre par les abeilles du lot témoin (ml)

Consommation moyenne du sirop de sucre (ml) durant l'année 2012										
Date Ruche	20-janv	23-janv	26-janv	29-janv	01-févr	05-févr	07-févr	10-févr	16-févr	19-févr
E11	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
E12	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
E13	320	320	320	320	320	320	320	320	90	170
E14	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
E15	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
E16	320	320	320	320	320	320	320	320	234	190
E17	320	320	320	320	320	320	320	320	70	250
E18	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
E19	320	320	320	320	320	320	320	320	115	170
E20	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320
x± δ	320	320	320	320	320	320	320	320	243	270
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	0	0	0	0	0	0	0	0	108	68

E11.....,E20 : Ruche

Tableau XXIX : Consommation moyenne de sirop de sucre à base de thymen (ml)

Consommation de sirop le thym en (ml) durant l'année 2012										
Date Ruche	20-janv	23-janv	26-janv	29-janv	01-févr	05-févr	07-févr	10-févr	16-févr	19-févr
E11	320	260	220	180	190	230	260	70	210	230
E12	320	320	320	320	320	280	300	20	170	320
E13	170	100	80	100	90	140	200	70	120	180
E14	320	240	220	190	190	240	290	50	180	210
E15	320	320	250	240	270	280	300	70	110	300
E16	320	260	200	180	200	190	240	90	170	220
E17	270	210	170	130	140	180	210	20	160	220
E18	210	150	140	160	160	200	250	70	180	240
E19	240	225	260	280	240	220	250	40	190	260
E20	180	185	210	220	200	210	230	30	180	250
x± δ	267,00	227,00	207,00	200,00	200,00	217,00	253,00	53,00	167,00	243,00
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	62,37	69,73	66,51	66,83	65,32	43,47	35,29	24,52	30,57	41,91

E11.....,E20: Ruche

IV-3-3-2-1-3-Consommation du sirop a base d'origan

Le tableau XXX montre que la consommation moyenne de sirop d'origan est moins des 2/3, La colonie du nucléus E3 consomme presque toute la quantité distribuée car elle est caractérisée par une forte population, Par contre la colonie E6 consomme moins de 1/3, On conclut alors que la consommation du sirop d'origan serait liée à l'état de la population.

Tableau XXX : Consommation moyenne de sirop de sucre traité par l'origan en (ml)

Consommation moyenne de sirop d'origan en (ml) durant l'année 2012										
Date Ruche	20-janv	23-janv	26-janv	29-janv	01-févr	05-févr	07-févr	10-févr	16-févr	19-févr
E31	200	180	190	170	180	180	230	100	20	230
E32	70	70	50	70	60	100	180	105	100	320
E33	310	320	320	320	320	320	320	320	320	180
E34	220	180	200	200	210	210	140	110	90	180
E35	130	150	140	150	160	160	270	150	130	210
E36	80	110	130	120	130	120	190	160	150	220
E37	190	210	250	250	230	240	310	235	190	220
E38	240	270	230	240	230	230	250	150	140	170
E39	280	260	210	200	210	210	320	310	270	320
E40	210	150	150	150	140	130	220	110	60	140
x± δ	193,00	190,00	187,00	187,00	187,00	190,00	243,00	175,00	147,00	219,00
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	79,17	76,59	74,39	71,50	70,56	66,16	62,55	83,86	92,14	59,90

E 3, E 5, E 6 : Numéro de la ruche

L'origan et le thym sous forme d'infusion auraient un effet répulsif suite vis-à-vis du varroa à l'odeur d'une part, et à l'augmentation de la viscosité d'autre part.

IV-3-3-2-1-4-Evolution des consommations des sirops durant la période de traitement

La figure 47 représente la consommation moyenne de sirop des différents lots (lot témoin, du thym et d'origan), La consommation est presque totale pour le lot témoin (307,33ml), suivie de celle du thym, à raison de 2/3 de l'infusion distribuée (213,17ml) et moins de 2/3 chez l'origan (190,17 ml), Toutefois, nous enregistrons une relative supériorité chez le thym.

La consommation du sirop varie d'une colonie à une autre en fonction d'une part, de la population des abeilles et d'autre part des basses températures enregistrées à l'extérieur de la ruche (0-4°C) durant la période qui s'étale du 10/02 au 16/02/2012.

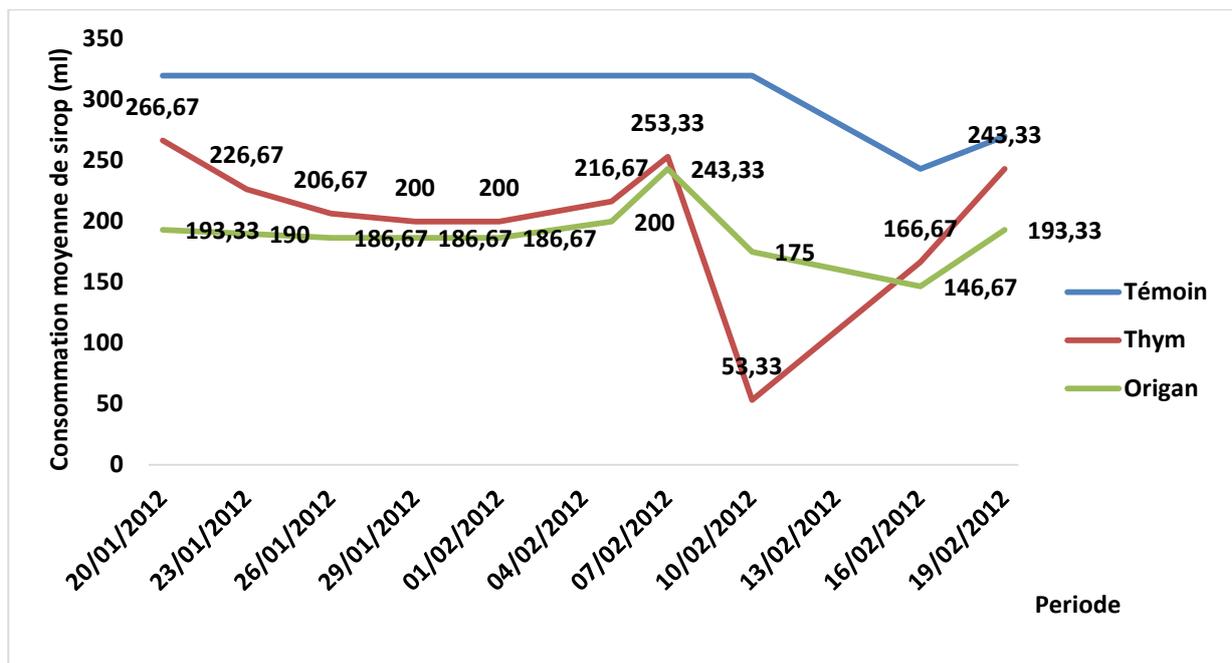


Figure 47 : Consommation moyenne de sirop par le lot, témoin, du thym et de l'origan (ml)

IV-3-3-3-2- Calcul de la surface du couvain

IV-3-3-3-2-1- Calcul de la surface du couvain du lot témoin

Les résultats des surfaces des couvains du lot témoin pendant 30 jours d'expérimentation, sont illustrés dans le tableau XXXI.

Nous remarquons qu'il y a 2 phases : la première débute du 19/01/2012 au 01/02/2012 où il y a une évolution de 198,26 cm², et dans la deuxième phase nous constatons une diminution de la surface du couvain de 810,56 cm² à 301,58 cm² ; soit une différence de 509 cm².

IV-3-3-3-2-2-Calcul de la surface du couvain du lot traité par le thym

Les résultats des surfaces du couvain sont mentionnés dans le tableau XXXII.

L'évolution du couvain est répartie en 2 phases :

- Dans la 1^{ère} phase : du 19/01/2012 au 01/02/2012, il y'a une évolution de 51, 28 cm²,
- Dans la deuxième phase nous constatons une diminution de la surface du couvain de 309,45 cm² à 114,67 cm², soit une différence de 194,74 cm² qui coïncide avec la diminution de la température et celle de la consommation de sirop.

Tableau XXXI: Evolution de la surface du couvain du lot témoin

surface du couvain en (cm ²)durant l'année 2012						
Date Ruche	19-janv	24-janv	01-févr	05-févr	11-févr	17-févr
E11	1365	1631	1876	1575	973	672
E12	333	377	335	279	168	113
E13	139	184	221	196	145	120
E14	328	359	275	169	87	43
E15	1252	1697	1789	1598	985	658
E16	147	187	218	152	89	49
E17	387	413	356	210	145	102
E18	1025	1369	1396	1205	812	598
E19	189	246	235	165	86	56
E20	958	1396	1405	1284	798	605
Σ	6123	7859	8106	6833	4288	3016
x± δ	612,31	785,90	810,56	683,29	428,85	301,58
	±	±	±	±	±	±
	482,46	646,20	710,21	641,67	403,71	287,34

Tableau XXXII: Evolution de la surface du couvain du lot traité par le thym

Surface du couvain en (cm ²)durant l'année 2012						
Date Ruche	19-janv	24-janv	01-févr	05-févr	11-févr	17-févr
E21	245	265	223	195	138	110
E22	357	458	496	404	215	121
E23	172	199	207	184	137	113
E24	161	177	184	161	112	96
E25	285	327	336	277	178	107
E26	376	478	489	396	257	189
E27	194	215	225	197	96	79
E28	246	248	263	201	119	85
E29	367	397	415	389	255	178
E30	179	264	256	204	126	69
Σ	2581,61	3028,95	3094,4	2607,25	1633,09	1147,01
x± δ	258,16	302,90	309,44	260,73	163,31	114,70
	±	±	±	±	±	±
	84,13	107,68	117,69	98,05	59,58	39,78

E21..... E30 :Numéro de la ruche

IV-3-3-3-2-3-Calcul de la surface du couvain du lot traité par l'origan

Les résultats des surfaces du couvain sont mentionnés dans le tableau XXXIII.

Tableau XXXIII. Evolution de la surface du couvain du lot traité par l'origan

surface du couvain en (cm ²)durant l'année 2012						
Date Ruche	19-janv	24-janv	01-févr	05-févr	11-févr	17-févr
E31	243	256	250	187	62	0
E32	170	150	118	88	29	0
E33	781	862	1190	1143	1050	1003
E34	456	496	568	498	402	367
E35	536	576	623	584	458	365
E36	156	125	85	66	32	8
E37	806	876	1185	1125	1019	965
E38	327	365	428	359	289	249
E39	155	119	93	68	42	23
E40	350	403	652	611	422	363
Σ	3980	4228	5191	4730	3806	3343
x± δ	397,98	422,84	519,15	472,98	380,56	334,30
	±	±	±	±	±	±
	244,08	281,74	413,13	405,30	384,78	377,40

E31..... E40 : Numéro de la ruche

Suite à l'application du traitement par l'origan, la surface du couvain évolue de 397,98 cm² à 519,15 cm² soit une différence de 121,17 en 1^{er} phase, et dans la 2^{ème} phase il y a une réduction de 184,85 cm² qui serait due probablement à une diminution de la température.

IV-3-3-3-2-4- Evolution des surfaces des couvains

Les résultats obtenus (figure 48 et annexe 12) montrent que tous les lots sont affectés par les baisses de température et que l'évolution de la surface du couvain est divisée en 2 phases principales : la première débute du 19/01/2012 au 02/02/2012 et la deuxième comprise entre le 02/02/2012 et le 16/02/2012. La surface moyenne du couvain traité par le thym durant la période expérimentale (1409,27 cm²) est inférieure à celle de l'origan (2527,67 cm²) et du témoin (3567,28 cm²) qui serait probablement due à l'effet du sirop du thym ayant une action inhibitrice sur la ponte de la reine.

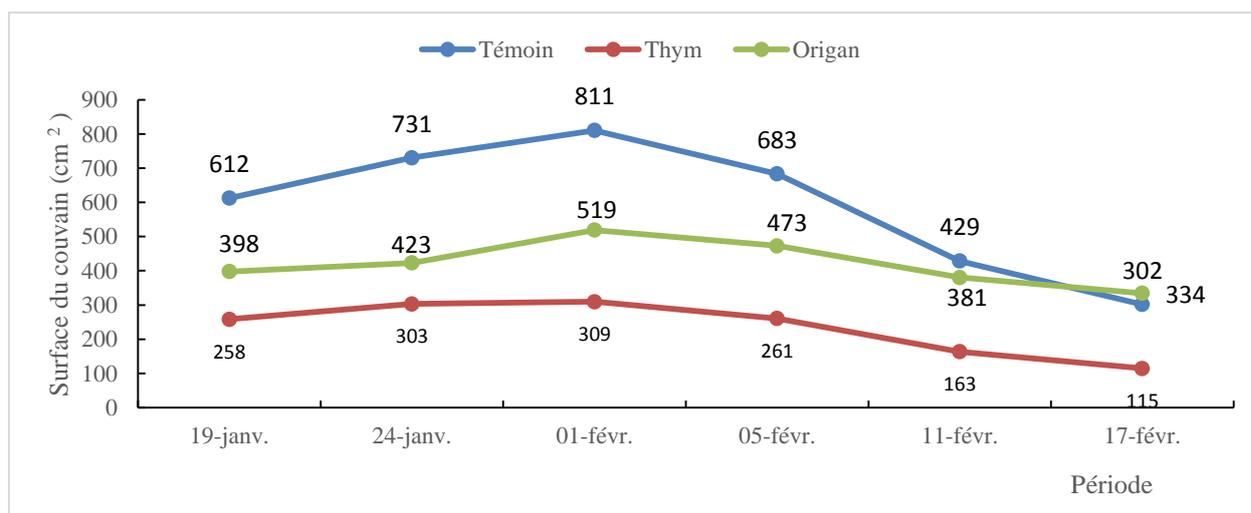


Figure 48, Evolution des surfaces moyennes du couvain

IV-3-3-3-Mortalité du *Varroa*

IV-3-3-3-1-Mortalité du *V. destructor* pour le lot témoin

Le nombre de varroas éliminés de façon naturelle est variable en fonction du temps (Tableau XXXIV). Ainsi, le nombre des individus éliminés durant la période s'étalant du 17/01 au 23/02 est de 315 soit une moyenne de 24 individus par jour (13 à 41 individus). Cette variabilité serait liée à l'activité de la colonie et à la température. Notons que le nombre d'individus éliminés le 13 février est le plus élevé, soit 41 individus).

Tableau XXXIV: Evolution de la mortalité moyenne du varroa du lot témoin durant l'année 2011-2012

mortalité du varroa															
date Ruche	17-janv	20-janv	23-janv	26-janv	28-janv	01-févr	04-févr	07-févr	10-févr	13-févr	16-févr	19-févr	23-févr	TOTAL	Moy/Jr
E11	40	52	39	83	54	93	84	56	47	117	79	100	41	885	68,08
E12	1	2	1	1	4	4	3	2	1	4	2	4	9	38	2,92
E13	0	3	1	1	0	0	3	2	2	3	2	5	1	23	1,77
E14	17	22	17	25	11	11	16	13	9	21	21	24	14	221	17,00
E15	23	25	19	27	18	36	33	23	21	76	43	66	28	438	33,69
E16	15	16	9	17	17	46	38	29	22	91	64	73	31	468	36,00
E17	2	8	12	26	18	18	21	17	15	21	11	14	6	189	14,54
E18	16	19	16	42	21	49	45	22	17	31	26	41	24	369	28,38
E19	7	15	8	16	18	24	20	18	16	28	13	18	7	208	16,00
E20	16	28	15	45	32	42	38	18	17	21	16	18	9	315	24,23
Σ	137	190	137	283	193	323	301	200	167	413	277	363	170	3154	242,62
X±σ	13,70	19,00	13,70	28,30	19,30	32,30	30,10	20,00	16,70	41,30	27,70	36,30	17,00	315,40	24,26
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	12,17	14,55	10,88	24,14	15,11	27,55	23,83	15,29	12,87	39,13	26,21	32,74	13,15	250,45	19,27

IV-3-3-3-2-Mortalité du *V. destructor* traité par le thym

Dans le lot n°2 la mortalité des varroas a été faible à la suite du traitement par le sirop de thym par rapport au témoin non traité, En effet, le nombre total de varroa éliminés durant la période s'étalant du 17/01 au 23/02 est de 90, soit une moyenne de 7 individus par jour (03 à 11 individus) , Le nombre d'individus éliminés le plus élevé est enregistré le 20 janvier. Cela serait dû à la réduction de la surface du couvain qui influencerait sur la population d'abeilles et par la suite sur la population de *varroa destructor*.

La 2^{ème} application du traitement par ingestion a provoqué plus de mortalité par rapport aux autres applications à raison de 11 individus en moyenne,(Tableau XXXV).

Le traitement par le sirop à base de thym provoque une faible mortalité du varroa par rapport au témoin, Cette faiblesse est liée à l'influence du sirop du thym sur la reine (blocage de la ponte).

Tableau XXXV: Evolution de la mortalité du varroa dans le lot traité par le thym

mortalité du varroa															
date	17-janv	20-janv	23-janv	26-janv	28-janv	01-févr	04-févr	07-févr	10-févr	13-févr	16-févr	19-févr	23-févr	TOTAL	Moy/Jr
Ruche															
E21	0	7	4	6	3	5	5	3	2	5	4	4	3	51	3,92
E22	7	25	19	13	14	18	16	11	8	12	9	16	16	184	14,15
E23	3	2	3	3	4	4	5	3	2	2	1	1	2	35	2,69
E24	1	13	7	5	3	5	4	2	2	2	1	1	1	47	3,62
E25	8	10	9	5	5	7	8	6	4	6	4	4	5	81	6,23
E26	6	12	11	8	9	11	11	4	4	7	6	7	6	102	7,85
E27	3	9	14	9	7	10	12	7	5	12	11	24	19	142	10,92
E28	2	14	6	9	10	12	10	5	3	5	2	2	5	85	6,54
E29	1	12	7	7	5	7	9	7	6	8	6	8	10	93	7,15
E30	2	9	7	8	10	11	7	9	4	4	3	3	3	80	6,15
Σ	33	113	87	73	70	90	87	57	40	63	47	70	70	900	69,23
X± δ	3,30	11,30	8,70	7,30	7,00	9,00	8,70	5,70	4,00	6,30	4,70	7,00	7,00	90,00	6,92
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	2,75	5,93	4,83	2,79	3,65	4,27	3,71	2,87	1,94	3,56	3,33	7,47	6,11	45,09	3,47

IV-3-3-3-3- Mortalité du *V. destructor* traité par l'origan

Le tableau XXXVI montre que l'efficacité du traitement par infusion est variable d'une application à une autre. En effet, nous remarquons une augmentation progressive de la mortalité de l'acarien jusqu'au 6^{ième} traitement où nous enregistrons le taux le plus élevé de

mortalité, soit 69 individus. Les mortalités sont plus importantes dans la ruche E3 avec une valeur qui varie de 26 à 199 varroas morts, C'est dans ce dernier que le traitement a le plus agit d'une part et d'autre part, la consommation de sirop par les individus de la colonie a été élevée.

Les résultats obtenus montrent l'action positive du traitement sur l'acarien *Varroa destructor* et le taux de mortalité journalier élevé du traitement par le sirop d'origan, par rapport au témoin, Ainsi, le nombre total d'individus éliminés durant la période s'étalant du 17/01 au 16/02 est de 410 soit une moyenne de 32 individus par jour (09 à 69 individus), Le nombre d'individus éliminé le plus élevé est observé en date du 01/02.

Tableau XXXVI: Evolution de la mortalité moyenne du varroa du lot traité par l'origan

mortalité du varroa															
date	17-janv	20-janv	23-janv	26-janv	28-janv	01-févr	04-févr	07-févr	10-févr	13-févr	16-févr	19-févr	23-févr	TOTAL	Moy/Jr
Ruche															
E31	1	5	4	11	4	6	2	2	1	4	0	40	4	84	6,46
E32	1	2	1	3	1	1	3	2	1	2	1	18	1	37	2,85
E33	26	50	90	96	107	199	123	82	68	192	138	117	90	1378	106,00
E34	15	22	37	42	48	125	67	31	17	37	28	25	30	524	40,31
E35	3	13	31	39	42	26	18	22	15	52	44	29	21	355	27,31
E36	17	31	46	49	51	81	46	25	20	39	35	76	38	554	42,62
E37	21	37	54	58	49	76	35	29	25	162	70	88	52	756	58,15
E38	1	7	14	19	15	36	36	31	25	38	45	59	27	353	27,15
E39	3	8	18	24	26	53	42	29	27	43	35	66	24	398	30,62
E40	5	15	22	26	30	84	55	34	34	91	67	65	28	556	42,77
Σ	93	190	317	367	373	687	427	287	233	660	463	583	315	4995	384,23
X± ð	9,30	19,00	31,70	36,70	37,30	68,70	42,70	28,70	23,30	66,00	46,30	58,30	31,50	499,50	38,42
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	9,50	15,78	26,74	26,96	30,59	59,85	35,19	22,02	18,99	63,89	39,71	31,04	25,33	377,64	29,05

IV-3-3-3-4- Comparaison des mortalités du *V.destructor*

Les résultats de mortalité des varroas des trois lots sont illustrés dans la figure 49 et l'annexe 13.

Le traitement par le thym et l'origan sous forme d'infusion pour le nourrissage des colonies d'abeilles pendant la période hivernale n'exteriorise pas pleinement son efficacité en basses températures car les abeilles d'hiver n'ont pas travaillé et que le froid les condamne à être immobiles.

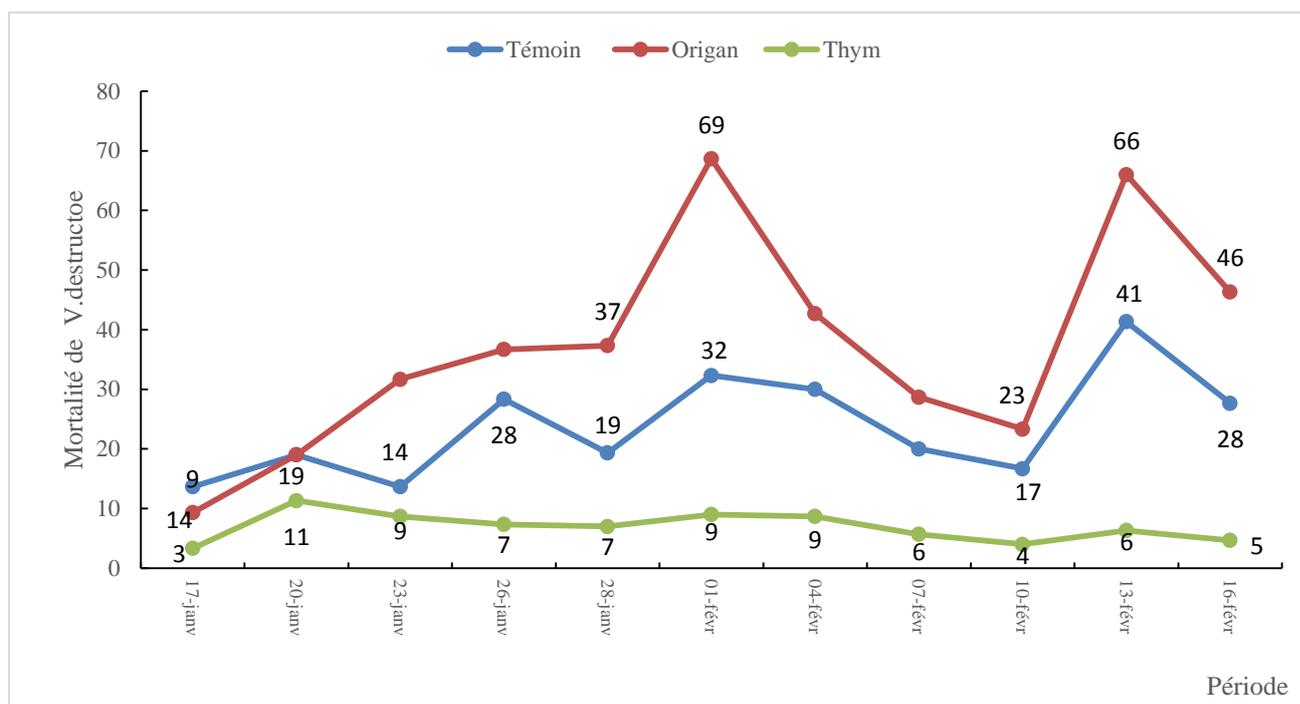


Figure 49: Comparaison de l'évolution des mortalités des lots témoin, thym et l'origan

Leur rôle essentiel est de maintenir au sein d'une grappe, qu'elles forment, au moins une température minimale (34°C) pour assurer la survie de la reine et ce, jusqu'à la fin de l'hiver. Toutefois, nous enregistrons deux périodes, correspondant à la désoperculation du couvain, durant lesquelles le taux de mortalité était au pic à la fin janvier avec des valeurs de 69, 32 et 9 individus respectivement pour l'origan, témoin et le thym. Pour la deuxième période soit le 13 février, le nombre de varroa éliminés était de 66, 41 et 6 respectivement pour l'origan, le témoin et le thym, Cela pourrait être dû à l'influence du nourrissage qui provoquerait la ponte de la reine.

IV-3-3-4- Détermination du taux d'infestation après traitement

- Pour déterminer l'efficacité des traitements, soit la réduction du taux d'infestation, la même méthode de diagnostic naturel décrite précédemment est utilisée. Les résultats sont représentés dans le tableau XXXIV.
- Le taux d'infestation final des lots traités a atteint une moyenne de 6,19% pour le thym; 4,40% pour l'origan, mais la persistance du couvain durant presque toute l'année n'écarte pas la possibilité de réinfestation qui peut être variable d'une colonie à une autre.
- **Lot n°1 (témoin)**
Le taux moyen d'infestation est de 6,19%, Cette diminution est normale pendant la période hivernale qui est caractérisée par une diminution de surface du couvain.

- **Lot n°2 traité par le thym**

Le taux moyen d'infestation est de 4,40%, Cette diminution serait due à un effet secondaire de thym (blocage de ponte) (Rekkab et Esserir, 2011) et les baisses de température durant la période expérimentale.

- **Lot n°3 traité par l'origan**

Le taux moyen d'infestation est de 13,57% avec une abondance de couvain durant et après le traitement ce qui pourrait porter préjudice aux colonies.

Tableau XXXVII: Détermination du taux d'infestation final

Ruche		Nbre des varroas mortes après 1 mois	Mortalité moyenne/j (B)	population varroas estimé (C)	Surface des couvains (cm ²)	Population abeilles estimée (P)	Taux d'infestation finale (%)	Taux d'infestation moyenne (%)
Lots								
Thym	E1	51,00	1,76	158,28	4732,81	11947,46	1,32	4,40
	E4	184,00	6,34	571,03	2075,81	5240,15	10,90	
	E9	35,00	1,21	108,62	4364,46	11017,59	0,99	
Origan	E5	44,00	1,52	136,55	7716,54	19479,55	0,70	13,57
	E6	39,00	1,34	121,03	1555,87	3927,63	3,08	
	E3	1458,00	50,28	4524,83	4854,55	12254,77	36,92	
Témoin	E2	885,00	30,52	2746,55	6405,31	16169,51	16,99	6,19
	E8	38,00	1,31	117,93	5352,10	13510,78	0,87	
	E7	23,00	0,79	71,38	3960,76	9998,51	0,71	
	X	271,89	9,38	843,79	4557,58	11505,11	7,06	
	±	±	±	±	±	±	±	
	O	437,45	15,08	1357,59	1926,99	4864,47	10,27	

$$B = A/29 \quad (C = B*90) \quad (d \cdot I_0 = C/P)$$

A : Nombre totale de varroa morts après un mois **B** : Mortalité journalière de varroa **C** : Population de varroa estimée

P : Population d'abeilles estimée **d** : Taux d'infestation **J** : Jour **E1**..., **E9** : Ruche

IV-3-3-5-Discussion des résultats

L'analyse de la variance est réalisée à l'aide du test de Newman et Keuls qui permet de déterminer le degré de signification entre les 02 facteurs, Dans notre, étude nous avons testé les analyses de variance entre deux facteurs définis comme suit :

Facteur 01 : l'extrait de thym et d'origan

Facteur 02 : la période de traitement

L'analyse de variance montre que, pour le facteur extrait de thym et d'origan elle est non significative, avec une probabilité = 0,0966 > 0,005 ce qui montre que le traitement n'agit pas sur la surface du couvain, Quant au facteur période de l'application, il est également non significatif, ce qui montre aussi que le facteur temps n'agit pas sur la surface du couvain.

L'analyse de la variance montre que le facteur extrait de thym et d'origan est non significatif avec une probabilité comprise entre $0,1464 > P > 0,005$, ce qui montre que les traitements appliqués n'ont aucune influence sur la mortalité du varroa.

Pour le facteur temps, il est aussi non significatif, ce qui montre aussi que le facteur période d'application n'agit pas sur la mortalité du varroa.

Le coefficient de variation est de 181,4%, donc d'autres facteurs hors traitement agiront sensiblement sur la mortalité du varroa et la surface du couvain. Les facteurs extrinsèques qui entrent en jeu, probablement sont les aléas climatiques représentés principalement par la baisse de température à cause de la chute de neiges exceptionnelles durant une semaine.

L'application des traitements nous a permis de calculer le taux d'efficacité de traitement, Les résultats obtenus montrent que :

- le traitement par ingestion du thym et de l'origan sous forme d'infusion pendant la période hivernale n'extériorise pas pleinement son efficacité.

Le taux de diminution de l'infestation finale à la suite des traitements par le sirop de l'origan est de 13,57%, Le taux initial de l'infestation est de 11,35% traduisaient déjà l'importance de la parasitose, et le danger que courraient ces ruches si aucun traitement n'était entrepris.

Après l'administration du sirop de l'origan, le degré d'infestation final a augmenté de 2,22% ce qui explique que le risque de réinfestation des ruches traitées n'est pas exclu en raison de la présence continue du couvain qui constitue un important site de multiplication des varroas.

Contrairement au lot n°2 du « thym » qui a accusé une faible parasitose évaluée à 4,40 %, Le lot n°1 « témoin » atteint un taux d'infestation de 6,19%.

- La mortalité du *V. destructor* est optimale pour le lot n° 3 traité par l'origan (68 individus morts).

- La mortalité moyenne est de 32 individus pour le lot n°3, traité par l'origan, et (24 individus pour le lot n°1(témoin)) et le 7 individus pour le lot n°2 traité par le sirop de thym.

L'efficacité est variable d'une application à une autre et d'une ruche à une autre. En effet, la mortalité journalière de varroa durant et après le traitement varie entre 14- 41 varroas dans le lot « témoin » ; de 3 - 9 varroas dans le lot traité par le sirop de thym et de 9 - 68 varroas dans le lot traité par l'origan.

Conclusion générale

Le travail a été mené dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles de lamiacées Algériennes et particulièrement le thym et l'origan poussant à l'état sauvage dans la wilaya de Ain Defla. Cette étude a permis de recenser, de localiser et de quantifier deux espèces (*Thymus algeriensis* Boiss & Reut, *Thymus fontanesii* L, et *Thymus ciliatus* L,) et (*origanum vulgare*). Deux cartes de répartition des deux espèces à travers le territoire de la wilaya sont élaborées.

Dans le but d'une lutte biologique contre le *Varroa destructor* les HE de ces deux espèces sont utilisées.

L'extraction des huiles essentielles de *T. algeriensis* et *O. vulgare* est réalisée par hydrodistillation. La caractérisation des extraits est réalisée par CG et CG/MS ainsi qu'une évaluation de leur potentiel acaricide. Le meilleur rendement obtenu varie de 3,16 à 5,15% durant le mois de juin pour l'espèce *T. algeriensis*. Cette période est caractérisée par une photopériode optimale propice à la biosynthèse des huiles essentielles. En plus, elle coïncide avec la période de floraison durant laquelle la plante dégage les huiles essentielles pour attirer les insectes pollinisateurs, Plus de 73% des huiles essentielles sont libérés durant la première heure d'extraction,

22 composés sont identifiés représentant 95,32% de la totalité des constituants pour l'espèce *T. algeriensis*, Les composés majoritaires sont carvacrol (44%), γ -terpinène (12,56%), p-Cymène (11,88%) et thymol (8,17%). L'huile essentielle extraite de *T. algeriensis* est de chémotype carvacrol, Ce composé majoritaire est caractérisé par ses propriétés antimicrobiennes, antioxydante et acaricide.

Contrairement à *T. algeriensis*, les rendements en huile essentielle d'*O. vulgare* sont extrêmement faibles, ils sont compris entre 0,02 - 0,09% enregistrés respectivement aux mois de janvier-février et du mois de juillet. Les analyses chimiques de l'huile essentielle d'*O. vulgare*, ont permis d'identifier 19 constituants représentant 96,3% des produits volatils totaux de cette HE, Les principaux constituants sont le carvacrol (53,87%), γ -terpinène (18,35%), p-cymène (6,87%) et linalol (4,68%). En revanche, le thymol ne représenté que 0,55 %. Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant sur le plan de leurs propriétés organoleptiques que sur leur rendement. Cette variabilité est due à notre avis, aux différents facteurs liés à l'espèce végétale, la période de récolte ainsi qu'aux conditions climatiques.

La mise au point d'outils complémentaires notamment biologiques est devenue nécessaire compte tenu de l'évolution de la parasitose *V.destructor* face aux moyens classiques de lutte. Parmi ces outils, les substances naturelles d'origine biologique à effet acaricide, serait une bonne alternative pour le contrôle des acariens telle que le thym et l'origan. Ces derniers représentent une piste que nous avons pu développer depuis plusieurs années sur la base d'observations faites, en testant leurs effets sous forme de pulvérisation, d'ingestion et de fumigation en fonction des saisons (printemps, été et hiver) et sous des conditions environnementales diverses. En hiver, la technique par pulvérisation à différentes doses (0,1, 0,3 et 0,5%) donne des résultats impressionnants par une réduction du taux d'infestation avec respectivement 24,0%, 32,4% et 32,6%. Le nombre moyen d'acariens éliminés étaient de 435, 1274 et 1366 respectivement. Les ruches traitées par l'HETA (0,5%) représentent la meilleure zone de couvain avec une évolution d'une surface de couvain de 225 cm² ce qui signifie que ce traitement n'a eu aucun effet négatif sur l'activité de la colonie d'abeilles et sur la ponte de la reine. La pulvérisation montre que ces huiles essentielles sont inoffensives sur les abeilles de la colonie. Quant au traitement par fumigation, il ressort clairement que le traitement par le thym engendre une mortalité importante de varroa lors de la deuxième et la troisième application et ce, durant la période printanière. En revanche, pour le traitement par la fumée d'origan, la mortalité est plus importante dès la première application avec 29 acariens morts. Cependant, ce taux de mortalité tend à diminuer pour atteindre 5 acariens, Le traitement par fumigation a réduit le taux d'infestation initial de 11,35% à 2,33%, soit une diminution de 9,02 % pour le thym et de 7,02% pour l'origan.

L'analyse de la variance a montré que, le facteur « fumée du thym » et de « l'origan » et le facteur « période d'application » sont non significatifs. Les analyses statistiques ont montré aussi que la variance est non significative entre les facteurs : *Thymus*, *origanum* et la période de traitement, Toutefois, la faible efficacité du traitement par fumigation remonte à la présence des couvains operculés qui empêchent la pénétration des fumées du thym et d'origan.

Quant au traitement sous forme d'ingestion, pour le nourrissage des colonies d'abeilles, pendant la période hivernale, il n'extériorise pas pleinement. Le sirop d'origan présente une faible activité acaricide avec un taux d'infestation du varroa variant de 0,70-36,92% comparativement à celles du thym et du témoin qui sont respectivement de 4,40% et 6,19%, Il en est de même pour la surface du couvain qui est de 2527,67 cm² pour l'origan, 1409,27 cm² pour le thym et 3567,28 cm² pour le témoin, Ceci s'explique par l'effet de l'huile essentielle sur l'acarien et en même temps sur la ponte de la reine.

Les résultats du traitement d'ingestion obtenus par le sirop d'origan concernant le taux de mortalité est de 32 individus/jour. Le traitement d'ingestion au thym est faiblement significatif (7 individus/jour) avec une forte influence sur la surface du couvain. L'efficacité du traitement aurait une relation étroite avec l'activité de la colonie d'abeille et la température du milieu externe car la consommation du sirop est très faible pendant les périodes froides (hivernales).

Les résultats obtenues par les divers traitements montrent qu'*O.vulgare* et *T. algeriensis* sont doués d'activités acaricides remarquables. Cette importante bio-activité des huiles essentielles serait en relation avec leurs compositions chimiques, riches en composés phénoliques. En effet, la sensibilité des varroas aux huiles essentielles suggère leur possible utilisation en thérapeutique comme alternative naturelle aux agents chimio thérapeutiques dont le spectre d'action serait en réduction continu. De même les huiles essentielles représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de protection des colonies d'abeilles. Ces substances naturelles riches en composés acaricides seraient considérées comme une alternative importante pour résoudre le problème de mortalité d'abeilles lié à la croissance d'acariens hémolymphe et d'éviter la perte en qualité et en quantité des produits de la ruche, Il est également à noter l'intérêt des substances huileuses végétales dans la répulsion ou la perturbation du comportement de l'acarien par pulvérisation sur *V.destructor* car la déperdition des huiles essentielles est moindre.

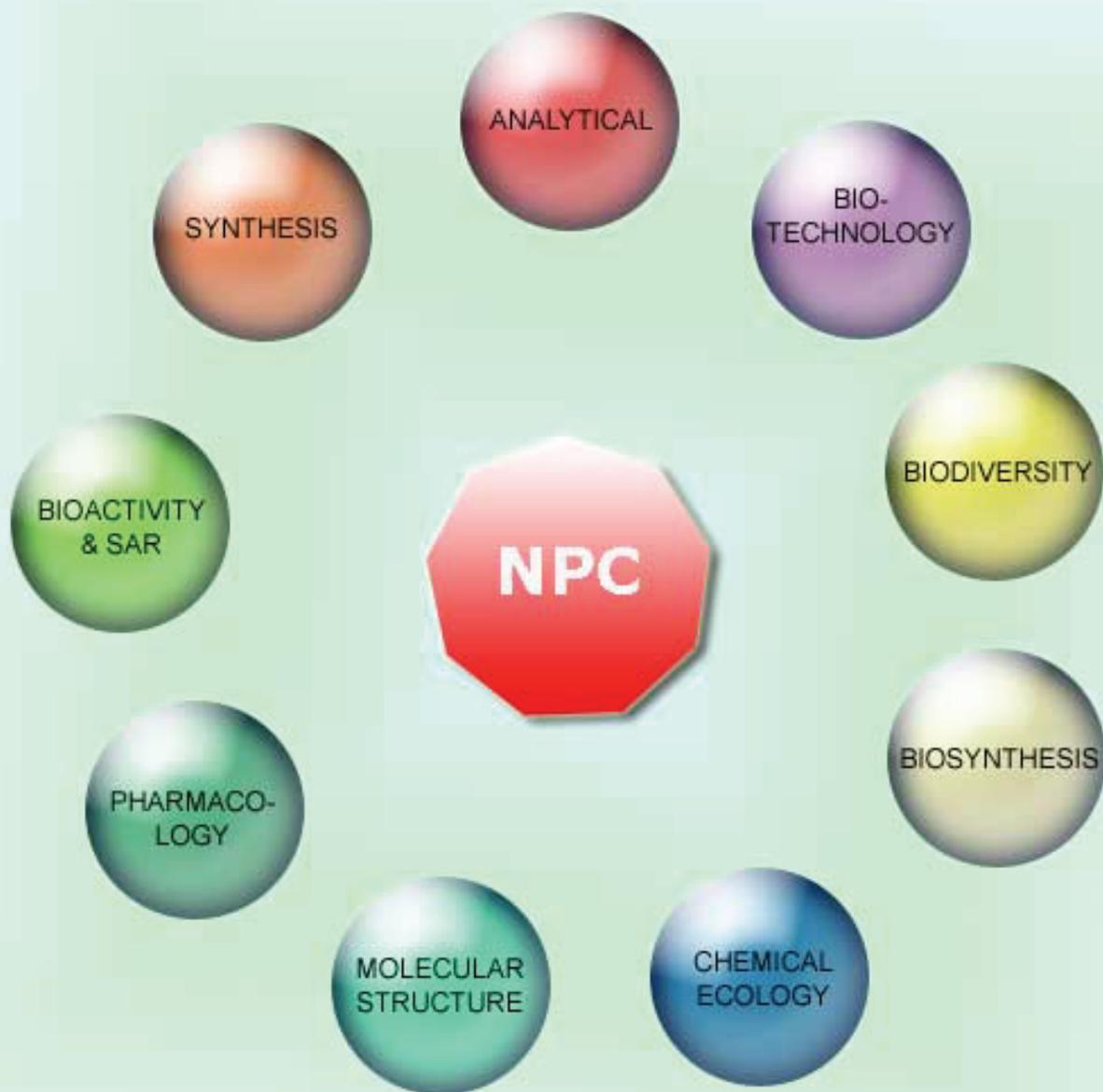
Enfin, le traitement contre l'acarien *V.destructor* par les huiles essentielles de thym et d'origan s'est révélé très efficace dans des conditions bien déterminées, et sans effet néfaste sur le développement des colonies et mériterait d'être proposé comme un bio-acaricide contre la varroase, un traitement naturel, simple et sans contre- indications. Il permettra aux apiculteurs de maintenir l'infestation du varroa sous le seuil de dégâts avec un travail supplémentaire raisonnable et, en même temps, il assurera des produits apicoles de haute qualité. Cependant, le choix d'une méthode ou stratégie de lutte contre le varroa ne dépendra pas seulement du choix de traitement mais de la période d'application, de la dose et de la voie d'administration, conditions indispensables, pour la réussite du traitement. Cependant, des recherches complémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité des huiles essentielles étudiées par :

- Fractionnement des différents constituants des huiles essentielles afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets acaricides et, l'éventuelle synergie entre elles.

- Elaboration des produits pharmaceutiques (modèle biologique), à base des composés des huiles essentielles pour traiter des pathologies, moins coûteux et facilement utilisables par les apiculteurs.
- Elaboration des cartes de répartition de ces espèces pour une éventuelle exploitation et valorisation de ces plantes.

NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS

An International Journal for Communications and Reviews Covering all
Aspects of Natural Products Research



Volume 12. Issue 1. Pages 1-152. 2017
ISSN 1934-578X (printed); ISSN 1555-9475 (online)
www.naturalproduct.us

EDITOR-IN-CHIEF**DR. PAWAN K AGRAWAL**

Natural Product Inc.
7963, Anderson Park Lane,
Westerville, Ohio 43081, USA
agrawal@naturalproduct.us

EDITORS**PROFESSOR ALEJANDRO F. BARRERO**

Department of Organic Chemistry, University of Granada,
Campus de Fuente Nueva, s/n, 18071, Granada, Spain
afbarre@ugr.es

PROFESSOR MAURIZIO BRUNO

Department STEBICEF,
University of Palermo, Viale delle Scienze,
Parco d'Orleans II - 90128 Palermo, Italy
maurizio.bruno@unipa.it

PROFESSOR VLADIMIR I. KALININ

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Pr. 100-letiya Vladivostoka 159, 690022,
Vladivostok, Russian Federation
kalininv@piboc.dvo.ru

PROFESSOR YOSHIHIRO MIMAKI

School of Pharmacy,
Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences,
Horinouchi 1432-1, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan
mimakiy@ps.toyaku.ac.jp

PROFESSOR STEPHEN G. PYNE

Department of Chemistry, University of Wollongong,
Wollongong, New South Wales, 2522, Australia
spyne@uow.edu.au

PROFESSOR MANFRED G. REINECKE

Department of Chemistry, Texas Christian University,
Forts Worth, TX 76129, USA
m.reinecke@tcu.edu

PROFESSOR WILLIAM N. SETZER

Department of Chemistry, The University of Alabama in Huntsville,
Huntsville, AL 35809, USA
wsetzer@chemistry.uah.edu

PROFESSOR PING-JYUN SUNG

National Museum of Marine Biology and Aquarium
Checheng, Pingtung 944
Taiwan
pjsung@nmmba.gov.tw

PROFESSOR YASUHIRO TEZUKA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University,
Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa 920-1181, Japan
y-tezuka@hokuriku-u.ac.jp

PROFESSOR DAVID E. THURSTON

Institute of Pharmaceutical Science
Faculty of Life Sciences & Medicine
King's College London, Britannia House
7 Trinity Street, London SE1 1DB, UK
david.thurston@kcl.ac.uk

HONORARY EDITOR**PROFESSOR GERALD BLUNDEN**

The School of Pharmacy & Biomedical Sciences,
University of Portsmouth,
Portsmouth, PO1 2DT U.K.
axuf64@dsl.pipex.com

ADVISORY BOARD

Prof. Norbert Arnold
Halle, Germany

Prof. Giovanni Appendino
Novara, Italy

Prof. Yoshinori Asakawa
Tokushima, Japan

Prof. Vassaya Bankova
Sofia, Bulgaria

Prof. Roberto G. S. Berlinck
São Carlos, Brazil

Prof. Anna R. Bilia
Florence, Italy

Prof. Geoffrey Cordell
Chicago, IL, USA

Prof. Fatih Demirci
Eskişehir, Turkey

Prof. Francesco Epifano
Chieti Scalo, Italy

Prof. Ana Cristina Figueiredo
Lisbon, Portugal

Prof. Cristina Gracia-Viguera
Murcia, Spain

Dr. Christopher Gray
Saint John, NB, Canada

Prof. Dominique Guillaume
Reims, France

Prof. Duvvuru Gunasekar
Tirupati, India

Prof. Hisahiro Hagiwara
Niigata, Japan

Prof. Judith Hohmann
Szeged, Hungary

Prof. Tsukasa Iwashina
Tsukuba, Japan

Prof. Leopold Jirovetz
Vienna, Austria

Prof. Phan Van Kiem
Hanoi, Vietnam

Prof. Niel A. Koorbanally
Durban, South Africa

Prof. Chiaki Kuroda
Tokyo, Japan

Prof. Hartmut Laatsch
Gottingen, Germany

Prof. Marie Lacaillle-Dubois
Dijon, France

Prof. Shoei-Sheng Lee
Taipei, Taiwan

Prof. M. Soledade C. Pedras
Saskatoon, Canada

Prof. Luc Pieters
Antwerp, Belgium

Prof. Peter Proksch
Düsseldorf, Germany

Prof. Phila Raharivelomanana
Tahiti, French Polynesia

Prof. Stefano Serra
Milano, Italy

Dr. Bikram Singh
Palampur, India

Prof. Leandros A. Skaltsounis
Zografou, Greece

Prof. John L. Sorensen
Manitoba, Canada

Prof. Johannes van Staden
Scottsville, South Africa

Prof. Valentin Stonik
Vladivostok, Russia

Prof. Winston F. Tinto
Barbados, West Indies

Prof. Sylvia Urban
Melbourne, Australia

Prof. Karen Valant-Vetschera
Vienna, Austria

INFORMATION FOR AUTHORS

Full details of how to submit a manuscript for publication in Natural Product Communications are given in Information for Authors on our Web site <http://www.naturalproduct.us>.

Authors may reproduce/republish portions of their published contribution without seeking permission from NPC, provided that any such republication is accompanied by an acknowledgment (original citation)-Reproduced by permission of Natural Product Communications. Any unauthorized reproduction, transmission or storage may result in either civil or criminal liability.

The publication of each of the articles contained herein is protected by copyright. Except as allowed under national "fair use" laws, copying is not permitted by any means or for any purpose, such as for distribution to any third party (whether by sale, loan, gift, or otherwise); as agent (express or implied) of any third party; for purposes of advertising or promotion; or to create collective or derivative works. Such permission requests, or other inquiries, should be addressed to the Natural Product Inc. (NPI). A photocopy license is available from the NPI for institutional subscribers that need to make multiple copies of single articles for internal study or research purposes.

To Subscribe: Natural Product Communications is a journal published monthly. 2017 subscription price: US\$2,595 (Print, ISSN# 1934-578X); US\$2,595 (Web edition, ISSN# 1555-9475); US\$2,995 (Print + single site online); US\$595 (Personal online). Orders should be addressed to Subscription Department, Natural Product Communications, Natural Product Inc., 7963 Anderson Park Lane, Westerville, Ohio 43081, USA. Subscriptions are renewed on an annual basis. Claims for nonreceipt of issues will be honored if made within three months of publication of the issue. All issues are dispatched by airmail throughout the world, excluding the USA and Canada.

Chemical Composition and Acaricidal Activity of *Thymus algeriensis* Essential Oil against *Varroa destructor*

Benmoussa Kouache^a, Moussa Brada^{b*}, Abdelkader Saadi^a, Marie Laure Fauconnier^c, Georges Lognay^d and Stephanie Heuskin^d

^aUniversité Hassiba Benbouali de Chlef, Institut des Sciences Agronomiques BP 151 Hay Salem, Route nationale N°19, 02000, Chlef, Algeria

^bLaboratoire de Valorisation des Substances Naturelles, Université Djilali Bounaama de Khemis-Miliana, Route de Theniet El Had, 44225, Algeria

^cAgro-Bio Chem Department, General and Organic Chemistry, University of Liege, Gembloux Agro-Bio Tech, 2, Passage des Déportés, B-5030 Gembloux, Belgium

^dAgro-Bio Chem Department, Analytical Chemistry, University of Liege, Gembloux Agro-Bio Tech, 2, Passage des Déportés, B-5030 Gembloux, Belgium

brada.moussa@hotmail.fr

Received: May 16th, 2016; Accepted: November 30th, 2016

The aim of the present study was to determine the chemical composition and evaluate the acaricidal activity of *Thymus algeriensis* essential oil (TAEO) against *Varroa destructor*. This ectoparasitic mite is a pest of the honey bee *Apis mellifera*. The essential oil from the aerial parts of *T. algeriensis*, obtained by hydrodistillation, was obtained in a yield of $2.8 \pm 0.2\%$, w/w. The TAEO was analyzed by GC and GC/MS. Thirty-four compounds were identified, representing 99.3% of the oil. The main constituents were carvacrol (48.4%), γ -terpinene (14.9%), *p*-cymene (14.7%), and thymol (5.6%). Four lots were constituted at the level of an apiary in order to study the dynamics of the *Varroa destructor* and its host, *Apis mellifera*. After diagnosis by the biological method "install of diapers", the lots were treated at different doses of TAEO (0.1, 0.3 and 0.5%). TAEO was sprayed on top of the hives. The results show that TAEO at 0.5% resulted in a decrease in the rate of infestation of *Varroa destructor*, causing a mortality rate of 32.6% without negative effect on the nesting of the queen. The essential oil of *T. algeriensis* could be used as a bioacaricidal agent.

Keywords: *Thymus algeriensis* L., *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, Essential oils, Acaricidal activity.

The honey bee, *Apis mellifera* L., is critical for crop pollination and honey production. The ectoparasitic mite *Varroa destructor* is a pest of the honey bee. This mite, which feeds on haemolymph of brood and adult bees, causes colony disorder, weakness, decrease in brood and deformation of bees [1a]. It also reduces the ability of the colony to pollinate plants [1b]. The parasite destroys the mechanical protective barriers of the integument and impairs the immune system of the bees. The disease caused by the *Varroa* mites is called varroasis and is one of the main causes of economic damage to the beekeeping industry. Varroasis was reported for the first time in Umm Teboul (East of Algeria) in June 1981, in an apiary of a beekeeping cooperative. Currently, this parasite has spread rapidly throughout the country. Natural products having components with various modes of action might provide an effective solution to the problem of varroasis [1c]. Essential oils might be an option to control *V. destructor*. Several authors report that these oils might be useful in reducing both mite infestation rates and hive contamination [1d-1e].

The genus *Thymus* L. (Lamiaceae) comprises more than 250 species growing wild throughout the world. This genus is represented by eleven species in the flora of Algeria, one of which is *T. algeriensis* Boiss. et Reut. *T. algeriensis* is the most endemic widespread North African species and well known as "Zaatar". The chemical composition of *T. algeriensis* essential oil has been extensively studied in different Maghreb countries [2a-2o], and the existence of several chemotypes has been revealed (Table 1). Therefore, the aims of this study were to analyze further the composition of the essential oil of wild *T. algeriensis* from Ain-Defla (Northern Algeria), and to determine its acaricidal activity

against *V. destructor* and its host, *A. mellifera*. To the best of our knowledge, this study represents the first report on acaricidal activity of *T. algeriensis* essential oil.

Extraction afforded a yellow-red oil with a very strong and persistent odor of *Thymus*. The essential oil yield was $2.8 \pm 0.2\%$, w/w, (n= 03). This plant can be assigned to one of the oil-rich species of the Lamiaceae. The percentages and retention indices of the identified oil components are listed in Table 2 in the order of their elution on the HP-5MS column. Thirty-four components were identified, accounting for 99.3% of the total oil. This was found to be rich in monoterpene phenols (carvacrol: 48.4% and thymol: 5.6%) and their corresponding monoterpene hydrocarbon precursors: *p*-cymene (14.7%) and γ -terpinene (14.9 %). Oxygenated monoterpenes were the predominant chemical group (58.4%), followed by monoterpenes (38.2%), whereas the sesquiterpenoid content was very low (2.7%). Chemical profiling of the TAEO sample revealed that it could belong to the carvacrol chemotype, as is quite common for Algerian samples of this species. The compositions of samples from North African countries showed that carvacrol and thymol were individually or jointly the predominant components. Thus, thymol (36.8%) and myrcene (20.2%) were reported as the major components for *T. algeriensis* from Libya [2c], while other authors cited thymol (14.4–65.1%) and carvacrol (22.8–70.3%) as the major compounds for Moroccan samples [2b].

According to the main compounds, several chemotypes were identified in wild plants growing in Tunisia [2h]. In Algeria, two chemotypes were found: thymol/*p*-cymene/ γ -terpinene (i) and

Table 1: Major compounds of *T. algeriensis* essential oils (%) from various countries.

Country	Ref ^{a)}	Major compounds ^{b)} (%)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Libya	[2c]		36.8	20.2						
	[2a]	4.7	38.5	8.9	7.2					
	[2i]		38.5	8.9	7.1					
	[2b]	22.8-70.3	14.4-65.1							
Morocco	[2m]	8.1	37.8	11.7	15.1					
	[2k]	80.4	3.4	5.0	2.0	1.8				
	[2j]	49.3	0.8	2.6	0.9	0.8			20.5	27.7
	[2h]						17.7		15.5	8.2
Algeria	[2g]		29.5	13	6.9					
	[2e]		29.2	6.8			43.3			
	[2l]	4	71		3	0.5				
	[2d]		62.7							
						78.8				

^{a)} Ref: References; ^{b)} Compound: 1. Carvacrol; 2. Thymol; 3. *p*-Cymene; 4. γ -Terpinene, 5. Linalool; 6. 1,8-Cineole; 7. 4-Terpineol; 8. α -Pinene; 9. Camphor.

Table 2: Chemical composition of *Thymus algeriensis* essential oil from Northern Algeria (mean of triplicates).

Compound	RI ^a	RI ^b	Area (%)
α -Thujene	930	923	1.4±0.6
α -Pinene	939	930	1.1±0.4
Camphene	944	945	tr
Sabinene	975	970	tr
β -Pinene	979	973	tr
1-Octen-3 ol	977	977	0.2±0.1
β -Myrcene	991	988	2.7±0.9
α -Phellandrene	1003	1002	0.3±0.1
α -Terpinene	1017	1015	2.2±0.9
<i>p</i>-Cymene	1025	1023	14.7± 2.6
Limonene	1029	1028	0.8±0.3
<i>trans</i> β -Ocimene	1050	1048	tr
γ-Terpinene	1060	1059	14.9± 2.8
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1070	1066	0.1±0.1
α -Terpinolene	1089	1088	0.1±0.1
Linalool	1097	1098	1.2±0.6
1-Octen-3-yl-acetate	1116	1113	0.4±0.1
Camphor	1146	1145	tr
Borneol	1175	1167	0.1±0.1
Terpinen-4-ol	1177	1177	1.5±0.7
<i>trans</i> -Dihydrocarvone	1201	1197	0.1±0.1
Carvacrol methyl ether	1245	1244	1±0.6
Thymol	1290	1293	5.6±1.8
Carvacrol	1299	1306	48.4±4.2
Terpinyl acetate	1347	1340	0.1±0.1
α -Gurjunene	1411	1413	0.7±0.2
β -Caryophyllene	1419	1423	0.1±0.1
Aromadendrene	1441	1443	0.2±0.1
Alloaromadendrene	1460	1465	0.1±0.1
Bicyclosesquiphellandrene	1473	1479	0.1±0.1
Ledene	1493	1499	0.2±0.1
γ -Cadinene	1506	1517	0.1±0.1
δ -Cadinene	1523	1526	1±0.4
Caryophyllene oxide	1583	1582	0.2±0.1

tr: traces (<0.1); RI^a, retention indices [4a]; RI^b, retention indices relative to C7-C30 on HP-5MS capillary column. Monoterpene hydrocarbons: 38.2%. Oxygen-containing monoterpenes: 58.4%; Sesquiterpene hydrocarbons: 2.5%; Oxygen-containing sesquiterpenes: 0.2%; Total identified: 99.3%

terpinyl acetate / nerolidol / α -pinene / borneol / bornyl acetate (ii) [2g]. The oil composition of two *T. algeriensis* samples collected from the same location was different with one thymol-rich and the other linalool-rich [2d]. TAE0 showed a large variability and displayed different chemical profiles. This great variability and diversity observed in the chemical composition of the essential oils of *Thymus* can be attributed to many factors, including climatic and soil variations, stage of the vegetative cycle, seasonal variation, and the method of preservation and extraction.

Diagnosis of the presence of *Varroa destructor* mite in an apiary revealed the existence of the mite in all the hives. All colonies of the hive were parasitized by the *Varroa* mite and presented a degree of infestation variable from 1.4 to 34%. There is a correlation between the number of *Varroa* collected daily and the total population within the colony. The mite population can be estimated throughout the year by multiplying the daily mite drop by: 250 - 500 or 20 - 40 when the brood is either absent or present, respectively [3a].

In order to ensure the survival of the colony the following year, anti-*Varroa* treatment is imperative, and some authors propose critical periods of intervention [3b] to the apiculture industry. To reduce the infestation threshold to 50 mites, it is necessary that the acaricidal treatment is conducted in August before the breeding of the winter bee brood [3c].

In order to determine the effect of treatment doses on the nesting of the queen, calculation of the brood area is necessary. The essential oils were diluted with analytical grade ethanol to the following concentrations: 0.1, 0.3, and 0.5%, v/v. The results of the treatments are represented in Figure 1. Lot D presents a very high brood area (1147 cm²), followed by lot B (913 cm²), A (903 cm²), and C (447.5 cm²), respectively. The hives treated by TAE0 (0.5%) represent the best brood area with an evolution from 925 - 1147 cm² corresponding to an increase of 225 cm². This means that this treatment had no adverse effect on the activity of the bee colony and the laying of the queen. As for the duration of application of treatment, the difference is not significant ($p = 0.4123$). Finally, the treatment did not disrupt the population of the hive; the brood remained compact and hatching continued normally, indicating the safety of the essential oils to the colony bees. The treatment with TAE0 had no influence on the activity of the colony bees and the laying of the queen. Application of TAE0, in winter (from 14/01 to 16/03) reduced the infestation of various lots infected by *V. destructor*. The results of the treatments at different concentrations (0.1, 0.3, and 0.5%) are represented in Figure 2. Mortality rates obtained were: A (4.1%), B (24.0%), C (32.4%) and D (32.6%), an average number of dead mites: A (173), B (435) C (1274) and D (1366). These results are consistent with those reported in the literature [3d]. Concerning the factor treatment dose, there is a clear significant difference ($p < 0.05$) between the four lots. Statistical analysis shows that treatment of lots A and B had no effect on the mortality of *Varroa*; then, it is very significant for lots C and D, which shows the effectiveness of treatment by the TAE0 concentration of 0.5%. There is a strong correlation between the number of mites killed and the concentrations of the oils tested. One possible explanation for this result is the presence of carvacrol and thymol as major components and the synergic effect with other monoterpenes, such as *p*-cymene, and γ -terpinene. Indeed, previous studies have found that carvacrol was acaricidal against several species of ticks, while carvacrol and γ -terpinene acted as miticides [3e]. Thymol and structurally related compounds like *p*-cymene are effective as acaricides; it has an acaricidal activity against *Varroa*, but while decreasing the laying of the queen [3f]. γ -Terpinene, another active substance of *Thymus* oil, has a very good varroacidal effect. However, the use of *Thymus* oil containing γ -terpinene at a concentration of 250 μ g/L of air has proved to be very toxic for both *V. destructor* and bees [1c]. On the other hand, the third application of TAE0 (0.5%) presented the most important rate of mortality (340 mites) during the treatment. The statistical analysis also reveals that this application ($p = 0.012$) corresponds to the stadium phoretic of the *Varroa* mite (Figure 2). During the period of development of the laying and nesting of the queen, the natural

mortality of *Varroa* decreases. This result is consistent with the literature [3g]. Also, it is slightly higher than that obtained by spraying oxalic acid at 0.56 g per colony on adult worker bees, where a mite mortality rate in the phoretic stage of 25.9% was observed [3h]. So, it is much higher than that obtained by applying, for 12 days, an extract of *Lantana camara*, when the infestation rate was reduced to 0.20% [3i]. Treatment with *Citrus aurantium* and *Cymbopogon flexuosus* reduced the average percentage of *Varroa* infestation by 100% after the fourth week [3j]. However, the spray of thyme oils resulted in the death of 65.9% of *Varroa* [3k]. In late autumn, the *Varroa* mite is very sensitive to essential oils due to the formation of a cluster and the absence of brood [3l]. When the external temperature range is from 15-20°C, some authors recommend the application of products containing thymol, because, beyond this range, outside temperature affects negatively the efficiency of the thymol and bee activity [1c]. These conditions are for our study and in the climatic conditions of Algeria in late winter with a temperature of 12-19° C. It follows that the application, in winter, of *T. algeriensis* essential oil by spraying inside the hives is very effective against infestation by *V. destructor* and for maintaining the activity of colony bees and the laying of the queen.

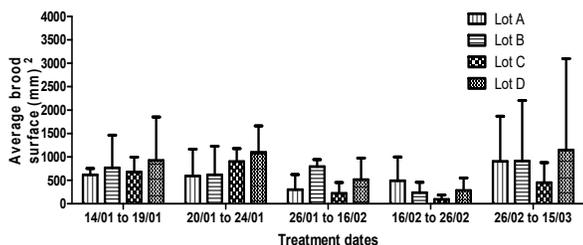


Figure 1: Average brood area during the spraying period of *T. algeriensis* essential oils (TAEO) at different doses. Lot A: control (untreated colonies), Lot B: TAEO (0.1%), Lot C: TAEO (0.3%), Lot D: TAEO (0.5%).

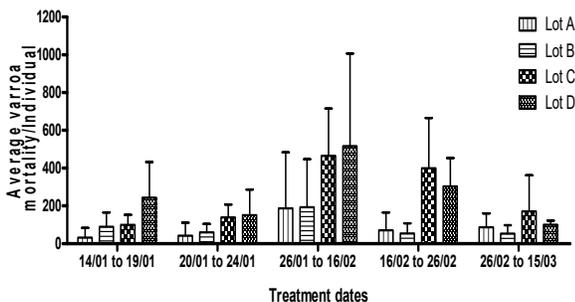


Figure 2: Average mortality of *Varroa* during the spraying period of *T. algeriensis* essential oils (TAEO) at different doses. Lot A: control (untreated colonies), Lot B: TAEO (0.1%), Lot C: TAEO (0.3%), Lot D: TAEO (0.5%).

The use of natural products as acaricides may represent an important alternative for the control of *V. destructor* since they are rich sources of bioactive compounds that are biodegradable. The present findings demonstrate that *T. algeriensis* essential oil may be used as a natural acaricide. Carvacrol, thymol, *p*-cymene, and γ -terpinene are the major compounds in *T. algeriensis* essential oil and may act synergistically to produce the observed acaricidal action against *V. destructor*. Treatment with TAEO (concentration 0.5%) applied in the climatic conditions of Algeria in late winter, is effective against the mite *V. destructor* and has no influence on the activity of the colony bees and the laying of the queen.

Experimental

Biological material: This study has been carried out in an apiary installed at Ain Defla (Algeria). Twenty hives were randomly

distributed in 4 blocs (A, B, C, and D), each block containing 5 hives. Block A (hives witnesses) was left without applications. The other blocs were treated with different doses (0.1, 0.3, and 0.5%) of *T. algeriensis* essential oil in 96% ethanol.

Plant material and essential oil hydrodistillation: Aerial parts of wild *T. algeriensis* were collected in the first week of June 2013 in Mekhatria within the region of Ain-Defla located in northern Algeria (at 140 Km Northwest of Algiers - latitude: 36°25' N; longitude: 2° 21'7" E; Altitude: 365m). A voucher specimen was deposited in the Herbarium of the Agronomic Departement, Djilali Bounaama University of Khemis Miliana. Air-dried plants (50 g) with 600 mL distilled water (1:12, w/v) were separately subjected to hydrodistillation for 2 h using a Clevenger-type apparatus. All experiments were conducted in triplicate and results were expressed on the basis of dry weight.

Essential oil analysis: Ten mg of essential oil was dissolved in 5 mL of diethyl ether. The essential oils were analyzed by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID) and by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC-MS).

GC-FID analysis: The analysis of the oil was carried out by means of an Agilent technology HP GC 6890 system with a flame ionization detector (FID), using a capillary column coated with 5 % phenyl-methyl siloxane (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m film thickness Agilent Technologies, Hewlett-Packard, CA, USA). The temperature program was as follows: 40°C during 1 min, then raised in a first ramp to 200°C at 6°C/min, followed by a second ramp to 280°C at 30°C/min, and finally kept at 280°C during 2 min. Injection was realized in splitless mode at 280°C; the volume injected was 1 μ L of diluted oil (10 mg of oil/5 mL diethyl ether). Detector temperature was fixed at 300°C; Carrier gas was helium at 1 mL/min.

GC-MS analysis: GC/MS was performed with an Agilent HP 6890 GC system coupled with an Agilent HP 5973 Network Mass Selective Detector operated by HP Enhanced ChemStation software. Analytical conditions were fixed as follows: Agilent HP-5MS capillary column (30 m x 0.25 mm, df = 0.25 μ m), a split-splitless injector at 250°C (splitless mode), temperature program: from 40°-250°C at 6°C/min, mobile phase: carrier gas helium at 1 mL/min. The mass spectra were recorded in EI mode (70 eV), scanned mass range: from 35 to 500 amu. Source and quadrupole temperatures were fixed at 230°C and 150°C, respectively. The identification of the components was performed on the basis of chromatographic retention indices and by comparison of the recorded spectra with computed spectral library (Wiley 275. L) [4a]. For sesquiterpene hydrocarbons, further confirmations were obtained by comparing the mass spectra with data from the literature [4a-4b]. Retention indices (RI) were calculated by means of a mixture of homologue *n*-alkanes (C₇-C₃₀) analyzed under the same chromatographic conditions used for the analysis of essential oils [4a].

Diagnosis of the presence of the Varroa mite before treatment by spraying: A diagnosis using the biological method "Installing the swaddling clothes" was performed before the treatment with *T. algeriensis* essential oil during the summer period. It allows the detection of the presence of the parasite and then to confirm and to assess the degree of infestation. Also, the diagnosis allowed us to establish a procedure to follow in order to preserve the bees in the best possible conditions [4c]. Among the biological methods for the diagnosis, the utilization of diapers or cover-bottoms was chosen. These swaddling clothes were smeared with fat (Vaseline)

supported by a grid on the floor of the hive. The swaddling clothes were then removed and examined carefully using a magnifying glass to detect dead *Varroa* mites. This method lasted for 30 days during which the swaddling clothes were replaced in the morning once every 3 days.

Treatment of the *Varroa* mites by spraying: The technique used was the spraying of TAE0 at different doses (0.1, 0.3, and 0.5% in

96% ethanol). It was applied to the top of the frames of the hive using sprayers to ensure contact of the treatment with the *Varroa* mites. The treatments were applied all 6 days during the winter period from 14/01/2012 to 26/02/2012. Then, dead *Varroa* mites were counted on the dashboard greased all 3 days with the aid of a magnifying glass. The surface of the brood was calculated using the equation of an ellipse.

References

- [1] (a) Anderson DL, Trueman JWH. (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidea) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, **24**, 165-189; (b) De Jong D, Morse RA, Eickwort GC. (1982) Mite pest of honey bees. *Annual Review of Entomology*, **27**, 229-252; (c) Imdorf A, Bogdanov SO, Choa RI, Calderone NW. (1999) Use of essential oils for the control of *V. jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidology*, **30**, 209-228; (d) Al-Abadi A, Nazer IK. (2003) Control of *Varroa* mite (*Varroa destructor*) on honeybees by aromatic oils and plant materials. *Agricultural and Marine Sciences*, **8**, 15-20; (e) González-Gómez R, Otero-Colina G, Villanueva-Jiménez JA, Peña-Valdivia CB, Santizo-Rincón JA. (2012) Repellency of the oily extract of neem seeds (*Azadirachta indica*) against *Varroa destructor* (Acari: Varroidea). *Experimental and Applied Acarology*, **56**, 261-70.
- [2] (a) Giweli AA, Džamić AM, Soković MD, Ristić MS, Marin PD. (2013) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Central European Journal of Biology*, 504-511; (b) Benjlali B, Hammouni M, M'Hamed A, Richard H. (1987) Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. *Sciences des Aliments*, **7**, 275-299; (c) Aboutabl EA, El-dahmy SI. (1995) Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, **33**, 87-90; (d) Houmani Z, Azzoudj S, Naxakis G, Skoula M. (2002) The essential oil composition of Algerian Zaatar: *Origanum* ssp. and *Thymus* ssp. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, **9**, 275-280; (e) Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T, Chelghoum C. (2006) Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *International Journal of Aromatherapy*, **16**, 95-100; (f) Hazzit M, Baaliouamer A. (2007) Composition of essential oils of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. and *Thymus numidicus* Poiret from Algeria. *Rivista Italiana EPPOS*, **43**, 11-18; (g) Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo AR, Faleiro ML, Miguel MG. (2009) Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*, **116**, 714-721; (h) Ben El Hadj Ali I, Zaouali Y, Bejaoui A, Boussaid M. (2010) Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chemistry & Biodiversity*, **7**, 1276-1289; (i) Nikolić M, Glamočlija J, Ferreira ICFR, CRC, Fernandes Â, Marković T, Marković D, Giweli A, Soković M. (2014) Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, **52**, 183-190; (j) Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Aafi A, Farah A, Aarab L, El Ajjouri M, Guedira A, Chaouch A. (2011) Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, **158**, 513-523; (k) Jaafari A, Ait Mouse H, Rakib EM, Ait M'barek L, Tilaoui M, Benbakhta C, Boulli A, Abbad A, Ziyad A. (2007) Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **17**, 477-491; (l) Chemat S, Cherfouha R, Meklati BY, Belanteur K. (2012) Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis* genuinus) essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, **24**, 5-11; (m) Zayyad N, Farah A, Bahhou J. (2014) Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of Thymus: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **83**, 2014, 118-132; (n) Ben Jabeur M, Hamada W. (2015) Antifungal activity of chemically different essential oils from wild Tunisian *Thymus* spp. *Natural Product Research*, **29**, 869-873; (o) Ben El Hadj Ali I, Chaouch M, Bahri R, Chaieb I, Fethia M. (2015) Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, **77**, 631-639.
- [3] (a) Martin S. (1998) A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling*, **109**, 267-281; (b) Kozac P, Eccles L, Tam J, Kemper M, Rawn D, Guzman E, Kelly P. (2012) *Varroa*-mite sampling and monitoring infestation levels. OMAFRA Infosheet Ontario, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs; (c) Noireterre P. (2011) Biologie et pathogénie du *Varroa destructor*. *Bulletin des GTV*, **62**, 101-106; (d) Otten C. (1991) Vergleichende Untersuchungen zum Populationswachstum von *Varroa jacobsoni* Oud. in Völkern von *Apis mellifera* L unterschiedlicher geographischer Herkunft. Ph D Thesis, JW Goethe Universität, Frankfurt, Germany; (e) Iori A, Grazioli D, Gentile E, Marano G, Salvatore G. (2005) Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology*, **129**, 173-176; (f) Burley LM, Fell RD, Saacke RG. (2008) Survival of honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) spermatozoa incubated at room temperature from drones exposed to miticides. *Journal of Economic Entomology*, **101**, 1081-1087; (g) Bruneau E. (2005) Dépérissement des ruchers en Région wallonne : Etat des lieux. *Abeilles & Cie*, **104**, 8-11; (h) Al Toufailya H, Scandian L, Ratnieks FLW. (2015) Towards integrated control of *Varroa*: 2. Comparing application methods and doses of oxalic acid on the mortality of phoretic *Varroa destructor* mites and their honey bee hosts. *Journal of Apicultural Research*, **54**, 108-120; (i) Zaitoun AA, Madkour MH. (2012) Acaricidal activity of some plant extracts on parasitic bee mite, *Varroa destructor*. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, **10**, 1153-1155; (j) Abd El-Wahab TE, Ebadah IMA, Zidan EW. (2012) Control of *Varroa* mite by essential oils and formic acid with their effects on grooming behaviour of honey bee colonies. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, **2**, 7674-7680; (k) Hamaad RFM, Eldoksch HA, Abdel Samed AM, Abdel Moein NM. (2008) Effect of essential oils and a thymol formulation for controlling *Varroa destructor* in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Egypt Journal Agricultural Research*, **86**, 951-961; (l) Noel R, Amrine JW. (1996) Formic acid fumigator for controlling honey bee mites in bee hive. Biology research in the UK. *American Bee Journal*, **137**, 382-385.
- [4] (a) Adams RP. (2001) *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*. Allured Publ., Carol Stream, Illinois; (b) Joulain D, König WA. (1998) *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*. E.B. - Verlag Hambourg; (c) Robaux P. (1988) *Varroa jacobsoni*: Problems with diagnosis and control in Europe. In *Africanized Honey Bee and Bee Mites*. Nedham G, Page R, Delfinado - Baker M, Bowman CE. (Eds). Ellis Horwood, Chichester, U.K, 370-372.

Pterostilbene and Its Glucoside Induce Type XVII Collagen Expression Hiroki Hamada, Kei Shimoda, Yoshiyuki Horio, Tsubasa Ono, Ryusuke Hosoda, Noriyuki Nakayama and Koichi Urano	85
Metabolites from <i>Penicillium</i> sp. Associated with <i>Paris polyphylla</i> Xiao-Zhan Li, Bao-Hui Ruan, Ya-Bin Yang, Xue-Qiong Yang, Guang-Yi Chen, Ming Hu, Bang-Yan Wang, Hao Zhou and Zhong-Tao Ding	87
Ferulic Acid Esters of Oligo-glucose from <i>Allium macrostemon</i> Ayaka Usui, Yosuke Matsuo, Takashi Tanaka, Kazusato Ohshima, Shinji Fukuda, Takara Mine, Hideyuki Nakayama and Kanji Ishimaru	89
Quantitative Analysis of Phenolic Acids and Antiplatelet Activity of <i>Melissa officinalis</i> Leaf Extracts Željko Maleš, Andrea Antolić, Ivana Babić, Sandra Jurić and Mirza Bojić	93
A Concise Synthesis of Rhodanthpyrone A and B, Natural 4-(Hydroxyphenyl)-substituted α-Pyrone Young Taek Han	95
A New Lignan from the Leaves of <i>Zanthoxylum armatum</i> Vinod Bhatt, Sushila Sharma, Neeraj Kumar and Bikram Singh	99
Production of Podophyllotoxin by Plant Tissue Cultures of <i>Juniperus virginiana</i> Marie Kašparová, Jan Martin, Lenka Tůmová and Jiřina Spilková	101
New Data on Vanillin-Based Isothiazolic Insecticide Synergists Alexey V. Kletschkov, Vladimir I. Potkin, Evgenij A. Dikumar and Romualda M. Zolotar	105
Phileucin - A Cyclic Dipeptide Similar to Phevalin (Aureusimine B) from <i>Streptomyces coelicolor</i> M1146 Nils Böhringer, Michael Gütschow, Gabriele M. König and Till F. Schäberle	107
OM-X[®], a Fermented Vegetables Extract, Facilitates Muscle Endurance Capacity in Swimming Exercise Mice Tomohiro Itoh, Yasuyoshi Miyake, Takayuki Yamaguchi, Shota Tsukaguchi, Rena Mitarai, Miyuki Enomoto, Seiya Ensho, Yoshie Shimomiya, Yuki Nakamura, Masashi Ando, Yasuyuki Tsukamasa and Muneaki Takahata	111
Essential Oils of <i>Morus alba</i> and <i>M. nigra</i> Leaves: Effect of Drying on the Chemical Composition Niko S. Radulović, Vojkan M. Miljković, Marko Z. Mladenović and Goran S. Nikolić	115
Vibrational and Thermal Studies of Essential Oils Derived from <i>Cistus ladanifer</i> and <i>Erica arborea</i> Shrubs Paula Carrión-Prieto, Pablo Martín-Ramos, Teresa M.R. Maria, Salvador Hernández-Navarro, Fermín Garrido-Launaga, M. Ermelinda S. Eusébio and Jesús Martín-Gil	119
Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of <i>Phellodendron lavallei</i> Anna Lis, Weronika Kowalska, Monika Sienkiewicz and Piotr Banaszczyk	123
Antimicrobial Potential of <i>Rosmarinus officinalis</i> Commercial Essential Oil in the Treatment of Vaginal Infections in Pregnant Women Mirjana A. Bogavac, Maja A. Karaman, Jan J. Sudi, Bojan B. Radovanović, Ljiljana N. Janjušević, Nenad B. Četković and Kristina D. Tešanović	127
Chemical Profile and <i>in vitro</i> Biological Activities of Essential Oils of <i>Nectandra puberula</i> and <i>N. cuspidata</i> from the Amazon Joyce Kelly R. da Silva, Eloisa Helena A. Andrade, Rosa Helena V. Mourão, José Guilherme S. Maia, Noura S. Dosoky and William N. Setzer	131
Chemical Composition and Acaricidal Activity of <i>Thymus algeriensis</i> Essential Oil against <i>Varroa destructor</i> Benmoussa Kouache, Moussa Brada, Abdelkader Saadi, Marie Laure Fauconnier, Georges Lognay and Stephanie Heuskin	135

Accounts/Reviews

Cereal Lignans, Natural Compounds of Interest for Human Health? Isabella Zanella, Giorgio Biasiotto, Finn Holm and Diego di Lorenzo	139
The Rare Amino Acid Building Block 3-(3-furyl)-Alanine in the Formation of Non-ribosomal Peptides Fayrouz El Maddah, Mamona Nazir and Gabriele M. König	147

Natural Product Communications

2017

Volume 12, Number 1

Contents

<u>Original Paper</u>	<u>Page</u>
Cytotoxic and Antileishmanial Components from the Bark Extract of <i>Ruyschia phylladenia</i> from Monteverde, Costa Rica Kelly Marie Steinberg, Samon Shrestha, Noura S. Dosoky, Lianet Monzote, Abel Piñón, William A. Haber and William N. Setzer	1
A New Cardenolide and Other Compounds from <i>Salsola tetragona</i> Hamida Ghorab, Abdelkrim Khettaf, Meriem Lehbili, Ahmed Kabouche, Abdulmagid Alabdul Magid, Dominique Harakat, Laurence Voutquenne-Nazabadioko and Zahia Kabouche	3
Quantification of Saponins in <i>Asparagus racemosus</i> by HPLC-Q-TOF-MS/MS Churanya Onlom, Nitra Nuengchamnonng, Watoo Phrompittayarat, Waraporn Putalun, Neti Waranuch and Kornkanok Ingkaninan	7
New Alkaloids and Anti-inflammatory Constituents from the Leaves of <i>Antidesma ghaesembilla</i> Phan Van Kiem, Le Canh Viet Cuong, Do Thi Trang, Nguyen Xuan Nhiem, Hoang Le Tuan Anh, Bui Huu Tai, Le Mai Huong, Chau Van Minh, Taek Hwan Lee, Sun Yeou Kim and Seung Hyun Kim	11
Chemical Characterization of <i>Narcissus poeticus</i> from Sirente –Velino (Apenines - Italy): Galantamine Accumulation and Distribution of Allergenic Compounds in the Flower Donatella Ferri, Carla Ubaldi, Giordana Marcozzi, Paolo Fasciani, Loretta Bacchetta and Loretta Pace	15
A New Imidazole from the Sponge <i>Dercitus (Halinastra) japonensis</i> Hiromi Hirade, Takahiro Haruyama, Nobuyuki Kobayashi, Nicole J. de Voogd and Junichi Tanaka	19
Acetyl-cholinesterase Inhibitory Activity of Methoxyflavones Isolated from <i>Kaempferia parviflora</i> Sang-Hwan Seo, Young-Choon Lee and Hyung-In Moon	21
Antimutagenic Effects of Polymethoxy Flavonoids of <i>Citrus unshiu</i> Takahiro Matsumoto, Taisuke Nishikawa, Ayano Furukawa, Saki Itano, Yuka Tamura, Tomohiro Hasei and Tetsushi Watanabe	23
Application of Mixture Analysis to Crude Materials from Natural Resources (V)^[1]: Discrimination of <i>Glycyrrhiza uralensis</i> and <i>G. glabra</i> by EI mass spectrometry Masaki Baba, Eriko Fukuda, Yoshihiro Uesawa, Hisahiro Kai, Koji Matsuno and Yoshihito Okada	27
Comparison of the Qualitative Chemical Composition of Extracts from <i>Ageratina havanensis</i> Collected in Two Different Phenological Stages by FIA-ESI-IT-MS[®] and UPLC/ESI-MS[®]: Antiviral Activity Trina H. Garcia, Claudia Quintino da Rocha, Marcelo J. Dias, Liudis L. Pino, Gloria del Barrio, Annele Roque, Caridad E. Pérez, Lourdes Campaner dos Santos, Iraida Spengler and Wagner Vilegas	31
Characterization of the Polyphenolic Profiles of Peel, Flesh and Leaves of <i>Malus domestica</i> Cultivars Using UHPLC-DAD-HESI-MS[®] Ana Petkovska, Viktor Gjamovski, Jasmina Petreska Stanoeva and Marina Stefova	35
Preparation and Validated Analysis of Anthocyanin Concentrate from the Calyces of <i>Hibiscus sabdariffa</i> Lubomir Opletal, Lucie Chocholousova-Havlikova, Tomas Siatka, Lucie Cahliková, Miroslav Locarek, Badreldin H. Ali, Priyadarshini Manoj, Aishwarya Ramkumar, Yousuf M. Al Suleimani, Mohammed Al Za'abi, Turan Karaca and Abderrahim Nemmar	43
The Influence of Extraction Parameters on Antimicrobial Activity of Propolis Extracts Mario Jug, Ognjen Karas and Ivan Kosalec	47
Comparative Evaluation of Phytochemicals, and Antidiabetic and Antioxidant Activities of <i>Cuscuta reflexa</i> Grown on Different Hosts in Northern Thailand Keerati Tanruean, Khwanta Kaewnarin, Nakarin Suwannarach and Saisamorn Lumyong	51
Chemical Composition, Antioxidant and Anticholinesterase Activities of <i>Gentianella azurea</i> from Russian Federation Daniil N. Olennikov, Nadezhda K. Chirikova and Cecile Vennos	55
Constituents of Fermented Male Flowers of <i>Alnus sieboldiana</i> (Betulaceae) Nurunajah Ab Ghani, Nor Hadiani Ismail and Yoshinori Asakawa	57
Secondary Metabolites from the Leaves of <i>Digitalis viridiflora</i> Hasan Kirmizibekmez, Norbert Kúsz, Nursenem Karaca, Fatih Demirci and Judit Hohmann	59
(±)-Perforison A, A Pair of New Chromone Enantiomers from <i>Harrisonia perforata</i> Wen-Juan Yuan, Wen-Fen Gao, Jia-Hui Zhang, Pei Cao, Yu Zhang, Duo-Zhi Chen, Shun-Lin Li, Ying-Tong Di and Xiao-Jiang Hao	63
Antiinflammatory and Analgesic Effects in Rodent Models of Ethanol Extract of <i>Clausena anisata</i> Roots and their Chemical Constituents Emmanuel Kofi Kumatia, Kofi Annan, Rita Akosua Dickson, Abraham Yeboah Mensah, Isaac Kingsley Amponsah, Alfred A. Appiah, Nguyen Hu Tung, Dominic Adotey Edoh and Solomon Habtemariam	67
Preventive Effects of Resveratrol-enriched Extract of Peanut Sprout on Bacteria- and Estradiol-induced Prostatitis in Mice Kyoung-Ho Pyo, You-Won Lee, Sang-Hoon Lee, Chun-Feng Xin, Ji-Hun Shin and Eun Hee Shin	73
Phenanthrenes from <i>Eulophia macrobulbon</i> as Novel Phosphodiesterase-5 Inhibitors Prapapan Temkithawon, Kanokwan Changwichit, Nantaka Khorana, Jarupa Viyoch, Khanit Suwanborirux and Kornkanok Ingkaninan	79
Bioactive Glucitol-Core Containing Gallotannins and other Phytochemicals from Silver Maple (<i>Acer saccharinum</i>) Leaves Abdullatif Bin Muhsinah, Hang Ma, Nicholas A. DaSilva, Tao Yuan and Navindra P. Seeram	83

Continued inside backcover

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abd El-Wahab TE., Ebadah IMA et Zidan EW. (2012). Control of *Varroa* mite by essential oils and formic acid with their effects on grooming behaviour of honey bee colonies. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2, 7674-7680

Abdel-Rahman M.F. (2004). Comparative studies between the characters of some races and hybrids of honeybee in Assiut region, Upper Egypt. Ph.D. Thesis, Assiut Univ., Assiut, Egypt.

Abobakr M., Mahmoud R., Mahmoud A., Abobakr Fa., Fadl G et Gad M. (2016). Antibacterial Activity of Essential Oils and in Combination with Some Standard Antimicrobials against Different Pathogens Isolated from Some Clinical Specimens. *American Journal of Microbiological Research* Vol. 4, No. 1, 2016, pp 16-25. doi: 10.12691/ajmr-4-1-2

Abobakr M., Mahmoud., Rehab Mahmoud Abd El-Baky., Abo Bakr F Ahmed., Gamal Fadl Mahmoud Gad. (2016). Antibacterial Activity of Essential Oils and in Combination with Some Standard Antimicrobials against Different Pathogens Isolated from Some Clinical Specimens. *American Journal of Microbiological Research* Vol. 4, No. 1, 2016, pp 16-25. doi: 10.12691/ajmr-4-1-2

Aboutabl E A., El-dahmy S I. (1995). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. *Bulletin of Faculty of Pharmacy*, Cairo University, 33, 87-90

Abramson CI., Wanderley PA., Wanderley M.J.A., Silva J.C.R et Michaluk LM. (2007). The Effect of essential oils of sweet fennel and pignut on mortality and learning in africanized Honeybees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) *Neotropical Entomology* 36 (6), pp. 828-835.

Adam frère. (1964). Les croisements et l'apiculture de demain. Paris: SNA, 1985, 127p.

Adams RP. (2001). Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. Allured Publ., Carol Stream, USA

AFNOR (1986). Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.

AFNOR (2000). Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6^{ème} édition. AFNOR, Paris.

AFNOR (2002). Méthodes horizontales de référence. 2002 Microbiologie alimentaire. Tome 1. Paris

AFNOR (2010). Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités>

AFNOR (Association française de normalisation) (1988). Recueil des normes françaises sur les corps gras, graines oléagineuses et produits dérivés. 4^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier. Paris la Défense.

AFNOR, (1996). Huiles essentielles. Volume 1 : échantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, 440 p.

AFSSAPS.(2008). Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé . Mai. 2008

Ait-Ouazzou A., Cherrat L., Espina L., Lorán S., Rota C et Pagán R. (2011).The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12: 320–329.

Ait-Ouazzou A., Espina L., García-Gonzalo D. et Pagán R. (2012). Synergistic combination of physical treatments and carvacrol for *Escherichia coli* O157:H7 inactivation in apple, mango, orange, and tomato juices. *Food Control*, 32 ,pp. 159-167

Al-Abbad A, Nazer IK. (2003).Control of *Varroa* mite (*Varroa destructor*) on honeybees by aromatic oils and plant materials. *Agricultural and Marine Sciences*, 8, 15-20

Alais C., Linden G. et Miclo L. (2008).Biochimie alimentaire, DUNOD. 6ème édition, paris. pp. 67-71

Alberti G., and Zeck-Kapp G., (1986).The nutritmentary egg development of the mite, *Varroajacobsoni* (Acari, Arachnida), an ectoparasite of honey bees. *Acta Zool. (Stockh.)*, 67: 11-25.

Aleš Gregorc and Ivo Planinc (2013). Use of thymol formulations, amitraz, and oxalic acid for the control of the varroa mite in honey bee (*Apis mellifera carnica*) COLONIES. *Journal of Apicultural Science. Vol. 56* No. 2.p 61-69

Aleš Gregorc, John Adamczyk, Stanislav Kapun & Ivo Planinc (2016). Integrated varroa control in honey bee (*Apis mellifera carnica*) colonies with or without brood, *Journal of Apicultural Research*, 55:3, 253 258, DOI: [10.1080/00218839.2016.1222700](https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1222700)

Aliano NP., Ellis M.D. et Siegfried B.D. (2006).Acute contact toxicity of oxalic acid to *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and their *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) hosts in laboratory bioassays. *J Econ Entomol* 99(5):1579–1582

Alonso De Vega, F., Reguera O., Martinez T., Alonso J., Ortiz J. (1990). Field trial of two products, Perizin and Folbex VA, for the treatment of varroa disease in honey bees. *Medicina Veterinaria*, 7: 35-41.

Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M et Chaouch A. (2010).Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. Volume 14* N°1

Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L., El Ajjouri M., Guedira A et Chaouch A. (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158, 513-523

Amdam GV., Hartfelder K., Norberg K., Hagen A. et Omholt S.W.(2004).Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering. *J Econ Entomol. Jun* ;97 (3):741-7.

Anderson DL. et Trueman JWH. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24,165-189

Anderson J., Phan L., et Hinnebusch AG.(2000). The Gcd10p/Gcd14p complex is the essential two-subunit tRNA (1-methyladenosine) methyltransferase of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(10):5173-8

Anton R. and Lobstein A. (2005).Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. *Tec. &Doc.*, Paris, 522p.

Aprotosoae AC., Spac A D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu VF., Dorneanu V et Stanescu U.(2010).The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.).*FARMACIA*, 58 (1). pp. 46-54

Araya YN., Silvertown J., Gowing DJ., Mc Conway KJ., Peter Linder H et Midgley G. (2011).A fundamental, eco-hydrological basis for niche segregation in plant communities. *New Phytologist*, 189, 253–258.

Asgar E., Sendi J J., Aliakbar A And Razmjou J .(2014). Chemical Composition and Acaricidal Effects of Essential Oils of *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae).*Psyche: A Journal of Entomology. Volume 2014*, Article ID 424078, 6 pages

Awol M., Berhanu Y., Alemnesh T, and Solomon T. (2016). In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*.*International Journal of Microbiology Volume 2016* , Article ID 9545693, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9545693>

Arvy, M.P. et Gallouin, F. (2003). Epices aromates et condiments. Paris: Belin. P: 24-30.

B

Baba Aïssa F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed. *Librairie Moderne-Rouiba*, pp 46 —47 - 194 - 195 —231.

Babulka P. (2007). Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne.*Phytotherapie* 5(3):137-145

Bacandritsos N., Papanastasiou I., Saitanis C.,Nanetti A et Roinioti E. (2007).Efficacy of repeated trickle applications of oxalic acid in syrup for varroosis control in *Apis mellifera*: Influenceof meteorological conditions and presence of brood. *Veterinary Parasitology* 148 : 174–178.

Bachelot C., Blaise A., Corbel T. & Le Guernic A. (2006). Les huiles essentielles : extraction et comparaison. Licence de Biologie.Bretagne U.C.O Nord, France. pp: 1-18

Bahreinejad B., Razmjoo J., et Mirza M.(2013).Influence of water stress on morpho-physiological and phytochemical traits in *Thymus daenensis*. *Int J Plant Prod* 7:155–166

Bakkali.F.,Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M. (2008). *Biological effects of essential oils. A review. Food and Chemical Toxicology .Volume 46, Issue 2, Pages 446-475*

Bakkali Aissaoui A., Amrani A., Zantar S et Toukour L. (2018).Activité Acaricide Des Huiles Essentielles Du *Mentha Pulegium, Origanum Compactum Et Thymus Capitatus* Sur L'acarien Phytophage *Tetranychus Urticae* Koch(Acari : Tetranychidae). *European Scientific Journal January 2018 edition Vol.14, No.3* ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431

Baker MD., et CYS., Peng. (1995).*Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*: A perspective of life history and why Asian bee mites preferred European honeybees. *American Bee Journal* 135(6):415-420.

Baser KHC. (1995). Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. in: Baser KHC, ed., *Proceedings of the13th International Congress of Flavours, Fragrances and EssentialOils, 15–19 October 1995*, AREP Publications, Istanbul, Vol. 2, pp. 181–199.

Baser KHC. and Buchbauer G. (2010).Handbook of Essential oils : Science, Technology and Applications. CRC Press. UK.

Basli A., Chibane M., Madani K et Oukil N. (2012). Activité antimicrobienne des polyphénols extraits d'une plante de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Pharmacologie*. 10 : 2-9.

Barbançon JM. et Monod D. (2005). Traitement de la varroase : Emploi de l'acide oxalique, *Abeilles & Fleurs n°666*, pp. 23-26.

Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., Karadogan T. (2004). Antimicrobial activity and composition of essential oils from *Origanum, Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control ;15:169–172*

Beirão ARB. and Bernardo-Gil MG. (2006). Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal; 8p

Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F. et Abdelouahid, D. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*. 6 : 153-159.

Belaïd M. et Doumandji S. (2010).effet du *varroa destructor* sur la morphometrie alaire et sur les composants du systeme immunitaire de l'abeille ouvriere *apis mellifera*intermissa. *Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 1,*

Belanger A. S., Khanizadeh (1995). Influence de la composition chimique des huiles essentielles de différents génotypes de fraisiers sur la résistance aux acariens. *Rivista Italiana EPPOS. 14, 443-445.,*

Belhattab R., Larous L., Kalantzakis G., Bouskou D. and Exarchou V. (2004). Antifungal properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Food, Agricul. & Envir, (2): 63-69.*

Belhattab R., Larous L., Figueiredo AC., Santos P. A. G., Barroso J G and Pedro L G. (2005). *Origanum glandulosum* Desf. Grown Wild in Algeria: Essential oil composition and glycosidic bound volatiles. *Flavour and Fragrance J, 20: 209-212.*

Belkamel A., Bammi J., Belkamel A., et Douira A. (2013). Étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'une endémique Ibéromarocaine : *Origanum compactum* (Benth.). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 19 (1) : 2880-2887

Belkhiri F., et Baghiani A. (2017). Plantes médicinales Activités antioxydantes et antibactériennes Etude de cas : *Tamus communis* et *Carthamus caeruleus*. Edition Éditions Universitaires Européennes OmniScriptum GmbH & Co. KG ISBN 978-3-330-86516-7

Benabid A. (2000). *Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité*. Paris : Édition Ibis Press, 159-161.

Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M A., and Bendahou M. (2013). Phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial activity of *Thymus lanceolatus* Desf. from Algeria. *Asian Pac J Trop Dis*. 2013 Dec; 3(6): 454–459. doi: [10.1016/S2222-1808\(13\)60100-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60100-0)

Benchabane O., Hazzit M., Baaliouamer A et Mouhouche F. (2012). analysis and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Ferula vesceritensis* Coss et Dur. and *Thymus munbyanus* Desf. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* .vol16.P: 774-781.

Bendahou M., Benyoucef M., Benkada D., Soussa Elisa M. B. D., Galvao E. L., Marques M. M. O., Muselli A., Desjobert J. M. Bernardini A. Fand Costa J. (2007). Influence of the processes extraction on essential oil of *Origanum glandulosum*. *J of Applied Sciences*, 8: 1152-1157.

Ben El Hadj Ali I., Zaouali Y., Bejaoui A and Boussaid M. (2010). Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chemistry & Biodiversity*, 7, 1276-1289.

Benjlali B., Hammouni M., M'Hamedi A and Richard H.(1987). Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. *Sciences des Aliments*, 7, 275-299.

Ben El Hadj Ali I., Chaouach M., Bahri R., Chaieb I and Fethia M. (2015). Chemical composition and antioxidant, antibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Industrial Crops and Products*, 77, 631-639

Ben El Hadj Ali I., Zaouali Y., Bejaoui A and Boussaid M. (2010). Variation of the chemical composition of essential oils in Tunisian populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae) and implication for conservation. *Chemistry & Biodiversity*, 7, 1276-1289.

Benkiki N.(2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algérienne. *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de Doctorat, Université Al-Hadj Lakhdar Batena, p. 112, 116, 117, 119, 123, 124, 133.

Benjlali B., Hammouni M., M'Hamedi A., Richard H. (1987). Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. *Sciences des Aliments*, 7, 275-299.

Berkani M L., Ghalem Z et Benyoucef M T.(2005). Contribution à l'étude de l'homogénéité de la race locale '*apis mellifera intermissa*' dans les différentes régions du nord de l'Algérie. *Annales de l'Institut National Agronomique Alger*.vol. 26, 2005. - p. 15-32.

- Bernard. (2010).** *Thymus vulgaris*, histologie. Forum le naturaliste. De la loupe au microscope
- Besombes C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat*. Université de La Rochelle, 289p.
- Bisht D, Chanotiya CS, Rana M and Semwal M, (2009).** Variability in essential oil and bioactive chiral monoterpene compositions of Indian oregano (*Origanum vulgare* L.) populations from northwestern Himalaya and their chemotaxonomy. *Ind Crops Prod* **30**:422–426
- Boecking O., Genersch E. (2008).** Varroosis – the ongoing crisis in bee keeping, *J. Verbrauch. Lebensm.* **3**, 221–228.
- Bogdanov S. (2006).** Contaminants of bee products. *Apidologia*, **37**(1), 1-18. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2005043>.
- Bonafos R. & Colin ME. (2010).** Rapport d'étude du monitoring de la sensibilité/résistance de *Varroa destructor* au tau-fluvalinate, à l'amitraz et au thymol. Rapport du programme communautaire pour l'apiculture.
- Bonnet-Alves L. (2002).** Chémotypes ou race chimique. Aromathérapie/ Fiches individuelles des huiles essentielles. Article thym.
- Bouaoun D., Hilan C., Garabeth F. and Sfeir R. (2007).** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie* **5**: 129-134.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Bouhdid D., Skali N S and Abrini J. (2006).** *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir*. 324-327.
- Boulos L. (1983).** Medicinal plants of North Africa. *Référence Publication: Algonac, MI*, pp 109-175.
- Boutekdjiret C., Belabbes R., Bentahar F., Bessière J M., et Rezzoug S A.(2004).** Isolation of rosemary oils by different processes. *J. Essent. Oil Res*, Vol. **16**, pp : 195–199.
- Boz I., Burzo I., Zamfirache M.M., Toma C. and Padurariu C. (2009).** Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (*Lamiaceae*). *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, pp.36-39.
- Bradbear N. (2010).** Le rôle des abeilles dans le développement rural Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 2010.
- Brødsgaard CJ., Ritter W., Hansen H., Brødsgaard HF.(2000).** Interactions among *Varroa jacobsoni* mites, acute paralysis virus, and *Paenibacillus larvae larvae* and their influence on mortality of larval honeybees *in vitro*. *Apidologie* **31**: 543-554.
- Bruneton J. (1987).** *Eléments de phytochimie et Pharmacognosie. Techniques et documentation*. Ed. Lavoisier pp. 261- 267.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. &Doc.* Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Lavoisier 3ème édition. Paris. pp: 227-310-312-313-314-494.

Bruneau E. (2005). Dépérissement des ruchers en Région wallonne : Etat des lieux. *Abeilles & Cie, 104*, 8-11; (h) Al Toufalia .

Bruneton J. (2008). Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 2eme Ed, Paris, Tec & Doc – Edition médicales internationales. 1188p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Ed : Tec &Doc,Lavoisier, 4ème édition, Paris, 1269p.

Büchler R., Berg, S., Le Conte Y. (2010). Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. *Apidologie 41*, 393–408.

Burley LM., Fell RD and Saacke RG. (2008). Survival of honey bee(*Hymenoptera: Apidae*) spermatozoa incubated at room temperature from drones exposed to miticides. *Journal of Economic Entomology, 101*, 1081-1087.

Burt S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology 94*(3):, pp.223-253.

C

Calderone NW. (2005). Evaluation of drone brood removal for management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the northeastern United States. *J. Econ. Entomol. 98* (3), 645–650.

Calderone NW. and Kuenen L.P.S. (2001). Effect of Honey Bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), Colony, Cell Type and Larval Sex on Host Selection by Female *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), *J. Econ. Entomol. 94*, 1022–1030.

Carette AS. (2000). La lavande et son huile essentielle. In Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat.* Université de La Rochelle, 289p.

Carlier V. (2006). Herbar medicinal, 35 plantes de santé à herboriser. Conservatoire des Jardins et Paysages Editeur : Aubanel.

Celik A., Herken EN., Arslan I., Ozel M.Z et Mercan N. (2010). Screening of the constituents, antimicrobial and antioxidant activity of endemic *Origanum hypericifolium* O. Schwartz & P.H. Davis. *Natural Product Research, 24*, 1568–1577.

Charai M., Mosaddak M. and Faid M. (1996). Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *Origanum compactum* Benth. *J. Essent. Oil Res., 8*, 657-664.

Charriere JD., Imdorf A., Bachofen B. and Tschan A. (2003). The removal of capped drone brood: an effective means of reducing the infestation of Varroa in honey bee colonies. *Bee World* 84 (3), 117–124.

Chauzat MP., Carpentier P., Martel AC., Bougeard S., Cougoule N., Porta P., Lachaize J., Madec F., Aubert M and Faucon JP.(2009).Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *.Environ Entomo.* ;38 (3):514-23.

Chemat F., Lucchesi M.E., Smadja J., Favretto L., Colnaghi G and Visinoni F. (2006). Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: a rapid, clean and environmentally friendly approach. *Anal. Chim. Acta* 555, 157–160.

Chemat S., Cherfouha R., Meklati BY and Belanteur K. (2012). Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis* genuinus) essential oil. *Journal of Essential Oil Research* 24, 5–11.

Clarenton N.(1999).La lavande (*lavandula angustifolia*, Mill.). Thèse de doctorat.

Colin M E., Vandame R., Jourdan P., Dipasquale S. (1997). Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* Oudemans (Acari: Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie* 28: 375- 384.

Combes C. (2005). The Art of Being a Parasite, pp. 280. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*; 52 (525) : 18-21.

Chen SS. et Soiro M .(1994).Study of Microwave Extraction of Essential Oil Constituents from Plant Materials.*Journal of Microwave Power and Electromagnetic .Energy* Volume 29, 1994 - Issue 4. Pages 231-241.

Cervo R., Bruschini C., Cappa F., Meconcelli S., Pieraccini G. et Pradella D. (2014).High *Varroa* mite abundance influences chemical profiles of worker bees and mite-host preferences. *J Exp Biol* 217: 2998–3001. pmid:25165133.

Chapleau JP. et Giovenazzo P. (2004). Développement de la résistance naturelle de l'abeille à la varroase dans le contexte de l'élaboration d'une stratégie de lutte intégrée. La fédération des apiculteurs du Québec. Rapport final du projet 2033. 43p.

Chassaing V. (2006). L'Aromathérapie: les huiles essentielles au service du cheval; Ed: Violaine Chassaing ; p: 4- 8.

Chiron C., Dulac O et Pons G.(2008).Antiepileptic drug development in children: considerations for a revisited strategy.*Drugs.* 2008;68 (1):17-25.

Chiron J. et Hattenberger Am. (2009). Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. Afssa Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 222.

Cimanga K., Kambu K., Tona L., Apers S., De Bruyne T., Hermans N., Totté J., Pieters L and Vlietinck AJ. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacology*, **79**, 213-220.

Clément H. (2006). En France la récolte de miel est passée... Libération du 23 août 2006.

Colin M.E., Ball B.V., Kilan I M.(1999). *Bee disease diagnosis*. Zaragoza : CIHEAM. p. 1 2 1 -1 42 (Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherches; n. 2 5)

Colin M., Tchamitchian M., Bonmatin J-M., Di Pasquale S. (2001). Presence of chitinase in adult *Varroa destructor*, an ectoparasitic mite of *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology* **25**: 947-955. DOI: 10.1023/A:1020657906024

Coineau Y. et Fernandez N. (2007). Maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille mellifère. Editeur : ATLANTICA .Collection : Atlantisciences. 498p

Colin M E. et Gonzalez-Lopez (1986). Traitement de la varroatose de l'abeille domestique : chimiothérapie, mesures adjuvantes et perspectives de lutte biologique. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1986, **5** (3), 677-687

Collins A. M., Pettis J. S. (2001). Effect of *Varroa* infestation on semen quality. *Am. Bee J.*, **141**, 590-593.

Colin M.E; Ducis J. de Lahitte, Larribau E., Boué T.(1989). Activité des huiles essentielles des Labiées sur *Ascopheara apis* et traitement d'une ruche .p225.

Colin M.E., Richard D., Fourcassié V., Belzunces L.P. (1990). Attraction of *Varroajacobsoni*, parasite of *Apismellifera* by electric charges. *J. InsectPhysiol.*, **38**, 111-117.

Colin M. E. (2011). Bases de traitement de la varroose. *Polycopié de cours*.

Colin M., Tchamitchian M., Bonmatin J-M., Di Pasquale S. (2001). Presence of chitinase in adult *Varroa destructor*, an ectoparasitic mite of *Apis mellifera*. *Experimental and Applied Acarology* **25**: 947-955. DOI: 10.1023/A:1020657906024

Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F. (1999). *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Letters of Applied Microbiology*, **29**: 130–135

Cuéllar Cuéllar A., Okoro O. D. (2010). Preliminary phytochemical and antimicrobial evaluation of the fresh and dried whole olant extracts from *Commelina Benghalensis*. *Rev. Colombiana cien. Anim.* **2**:104-115.

D

Daher-Hjajj N., Alburaki A. (2006). Control of *Varroa jacobsoni* Oud. by fumigation with natural plant substances. *Arab Journal of Plant Protection* **24**, 93–97.

- Damintoti, K., Mamoudou H.D., Simpore J. and Traore A.S.(2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso, *African Journal of Biotechnology* 4 (8), 823-828.
- Dashti G N., Mirlohi M., Dashti M G., Jafari M and Esfahani N B. (2015).** Antioxidant Effect of Thyme Essential Oil on Oxidative Stability of Chicken Nuggets *International Journal of Food Engineering Vol. 1, No. 2, December 2015*
- De Guzman LI., Rinderer TE et Frake A.M. (2008).**Comparative reproduction of *Varroa destructor* in different types of Russian and Italian honey bee combs. *Exp. Appl. Acarol.* 44 (3), 227–238.
- De Guzman LI., Rinderer TE., Delatte GT et Macchiavelli RE. (1996).***Varroa jacobsoni* Oudemans tolerance in selected stocks of *Apis mellifera* L., *Apidologie* 27, 193–210.
- De Jong D., Morse RA et Eickwort GC. (1982).** Mite pest of honey bees. *Annual Review of Entomology*, 27, 229-252
- De Jong D., Morse RA., Eickwort GC. (1982).** Mite pest of honey bees. *Annual Review of Entomology*, 27, 229-252
- De Jong &Goncalves (1982).**A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *varroa jacobsoni* on adult honeybees. *Apidologie*, 13 3 (1982) 297-306
- De Ruijter A. and Kaas J.P. (1983).** The anatomy of the *Varroa*-mite. pp. 45–47. In: Cavalloro, R. (Ed.). *Varroa jacobsoni* Oud. Affecting Honey Bees: Present Status and Needs. Proceedings of the EC Experts' Group, Wageningen, 7–9 February, 1983. A. A. Balkema, Rotterdam.
- De Ruijter. (1987).** Reproduction of *varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. *Apidologie*, Springer Verlag, 1987, 18 (4), pp.321-326.
- Degryse AC., Delpla I et Voinier M.A. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.
- Delfinado-Baker M. et Aggarwal K. (1987).**A new *Varroa* (Acari: Varroidae) from the nest of *Apis cerana* (Apidae).*International Journal of Acarology*13(4):233-237
- Derwich E., Benziane Z and Boukir A. (2010).** Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int. J. Agric. Biol.* 12 (2), 199–204.
- Desmares C., Laurent A. & Delerme C., (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS*. Anatole, France, 18p.
- Dillier FX., Fluri P. and Imdorf A. (2006).** Review of the orientation behavior in the bee parasitic mite *Varroa destructor* : Sensory equipment and cell invasion behavior. *Rev. Suisse. Zool.* 133 (4), 857–877
- Dob T., Darhmane D., Benabdelkader T. and Chelghoum TC.(2006).** Studies on the essential oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *Int. J. Aromatherapy*, 16 (2), 95-100.

Dongmo P M J., Tchoumboungang F., Ndongson B., Agwanande W., Sandjon B., Zollo P H A and Menut C.(2010). Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumeaklaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (4): pp. 606-611.

Donzé G. (1995). Adaptations comportementales de l'acarien 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.

Donze G. and Guerin, P.M. (1994). Behavioral attributes and parental care of *Varroa* mites parasitizing honeybee brood. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34, 305–319.

Donze G., Herrmann M., Bachofen B and Guerin, P.M. (1996). Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecol. Entomol.* 21, 17–26.

Dua VK., Kumar A., Pandey AC., Kumar S. (2013). Insecticidal and genotoxic activity of *Psoralea corylifolia* Linn. (Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say, 1823. *Parasit Vectors* 2013, 6: 30.

E

Edmongor et Chweya (1996). Perfumer and flavorist, May/June 1996, Vol. 21, N° 3, P. 55. In *Progress in Essential oils, 1996-2000*.

El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Amarti F., Rahouti M., Aafi A., Ismaili M. R. et Farah A. (2010). Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294, DOI: 10.1080/12538078.2010.10516206

El-Akhal F., Greche H., Ouazzani C F., Guemmouh R et El Ouali A L.(2015). Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (1) (2015) 214-219 *El-Akhal et al* ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESCEN 214.

Ellis J.d. et Zettel Nalen C M. (2010). *Varroa* Mite, *Varroa destructor* Anderson and Trueman (Arachnida: Acari: Varroidae). In University of Florida, document EENY-473.

El-Nabarawy IM., Fonzy ASM., Sheble DEA et Shalby SEM.(2002). Incidence and stability of pesticide residues in some vegetable fruits as affected by food processing. *Egypt J Food Sci.* 30 :205–215

Elzen PJ., Baxter JR., Spivak M and Wilson WT. (2000)a. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apdiologie* 31, 437-441

Elzen PJ., Baxter JR., Elzen GW., Rivera R and Wilson WT. (2000)b. Evaluation of Grape fruit essential oils for controlling *Varroa jacobsoni* and *Acarapis woodi*. *Amer. Bee. J.*, 140 (8): 666-668.

Elzen P.J and Westervelt D. (2002). Detection of Coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida, *Am. Bee J.* 142, 291–292.

Eisen A., Utley RT., Nourani A., Allard S., Schmidt P., Lane WS., Lucchesi JC and Cote J.(2001).The yeast NuA4 and Drosophila MSL complexes contain homologous subunits important for transcription regulation. *J Biol Chem* 276(5): 3484-91

Eischen, F. A. and W. T. Wilson. (1997). The effect of natural products smoke on *Varroa jacobsoni*. *Amer. Bee Res. Conf. Amer. Bee J.* 137: 222-223.

Emsen B. and Dodologlu A. (2009).The Effects of Using Different Organic Compounds against Honey Bee Mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) on Colony Developments of Honey Bee (*Apis mellifera* L.) and Residue Levels in Honey.*Journal of Animal and Veterinary Advances.*Volume: 8 | Issue: 5 | Page No.: 1004-1009

Erdogan O.I and Belhattab R (2010) . Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare subsp. glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Ind. Crop. Prod.* **32**: 566–71.

F

Fahle N. and Rosenkranz P. (2005). Mate choice in *Varroa destructor*: male mites prefer young females, In: IUSSI-Proceedings of the German Section Meeting at Halle, ISBN 3-901864-02-4.

Faleiro M L., Miguel M G., Ladeiro F., Venancio F., Tavares R., Brito J C., and Pedro LG. (2003).Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Letters in applied microbiology*, 36 (1), 35-40.

Fantino NS. (1990).Etude du polymorphisme au d'une population de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.)- Détermination de critères précoces de sélection. Thèse de doctorat.Université de La Rochelle.p :41-45.

FAO stat. (2009). Consultation de nutrition du nectar à la potion magique le miel. In<http://www.fao.org>

Faucon JP., Drajnudel P., Chauzat M.P et Aubert M.(2007). Contrôle de l'efficacité du médicament Apivar ND contre *Varroa destructor*, parasite de l'abeille domestique. *Revue de Médecine Vétérinaire* 158, (6), 283-290.

Faucon JP., Aurières C., Drajnudel P., Mathieu L., Ribière M., Martel AC., Zeggane S., Chauzat MP and Aubert MF.(2005). Experimental study on the toxicity of imidacloprid given in syrup to honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Pest Management Science* 61, 111-125.

Fekam Boyom F. (1992). Huiles essentielles de quelques Annonacées du Cameroun : teneur, caractéristiques chimiques et propriétés pharmacodynamiques. Thèse de doctorat, Université de Yaoundé.

Fernandez N .et Coineau Y. (2002).*Varroa Tueur d'abeilles*. Ed. Atlantica (Anglet), 237 p.

Figueredo G. (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.

Figueredo G., Cabassu P., Chalchat J.C. & Pasquier B., (2006). Studies of Mediterranean oregano populations. VIII– chemical composition of essential oils of oreganos of various origins. *Flavour Frag. J.* 21:134–139.

Floris FJT., Satta A., Garau V., Meli L., Cabra M P and Aloul N.(2001). Effectiveness, persistence, and residue of amitraz plastic strips in the apiary control of *Varroa destructor*. *Apidologie* 32 (2001) 577–585

Floris I., Satta A., Cabras P., Garau VL., Angioni A. (2004). Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues. *J. Econ. Entomol.* 97 (2), 187–191.

Foda M I., El-Sayed M A., Hassan A A., Rasmy N M and El-Moghazy M M .(2010). Effect of spearmint essential oil on chemical composition and sensory properties of white cheese. *Journal of American Science*; 6 (5) : pp. 272-280.

Fries I and Bommarco R .(2007). Possible host-parasite adaptations in honey bees infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie*, **38**, 525-533.

Fries I., Camazine S., Sneyd J .(1994). Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World*, **75**, 1, 5-28.

Fries I., Hansen H., Imdorf A and Rosenkranz P.(2003). Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie*, **34**, 389-397.

Fries I., Imdorf A and Rosenkranz P.(2006). Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie*, Springer Verlag, 2006, 37 (5), pp.564-570. <hal-00892212>

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M B., Taghizadeh M., Astaneh S A And Rasooli I .(2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.

Garnéro J. (1991). Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. *Encyclopédie des médecines naturelles*, Paris, France, pp. 2-20.

Garneau FX. (2004). Le matériel végétal et les huiles essentielles. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 1-16.

Garnero P., Ferreras M., Karsdal MA., Nicamhlaoibh R., Risteli J., Borel O., Qvist P., Delmas PD., Foged NT and Delaissé JM (2003). The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res.* ;18 (5):859-67.

Garrido C and Peter Rosenkranz P.(2003).The reproductive program of female *Varroa destructor* mites is triggered by its host, *Apis mellifera*.*Experimental and Applied Acarology* 31(3 4):269-73

Garrido C., Rosenkranz P., Paxton RJ and Gonçalves LS.(2003). Temporal changes in *Varroa destructor* fertility and haplotype in Brazil. *Apidologie* 53: 535-541.

Garrido C., Rosenkranz P., Stürmer M., Rübsam R and Büning J. (2000). Toluidine blue staining as a rapid measure for initiation of oocyte growth and fertility in *Varroa jacobsoni* Oud..*Apidologie*, 31, 559-566.

Genersch E., von der Ohe W., Kaatz H., Schroeder A., Otten C., Büchler R., Berg S., Ritter W., Mühlen W., Gisder S., Meixner M., Liebig G and Rosenkranz P .(2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*. doi:10.1051/apido/2010014

Ghasemi P A., Rahimi E and Moosavi S A .(2010). Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Acta agriculturae Slovenica*, 95-3, pp.219-223.

Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A.M., (2001).Le préparateur en pharmacie. Dossier 2 : Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

Gilles Figueredo (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II,

González-Gómez R., Otero-Colina G., Villanueva-Jiménez JA., Peña-Valdivia CB., Santizo-Rincón JA. (2012). Repellency of the oily extract of neem seeds (*Azadirachta indica*) against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Experimental and Applied Acarology*, 56, 261-70.

Giordiani R., Hadeff Y. et Kaloustian J. (2008).Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79, 199–203.

Giovenazzo P. and Dubreuil P. (2011). Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* in honey bee *Apis mellifera* colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology*. 55 (1):65-76.

Giweli AA., Džamić AM., Soković MD., Ristić MS and Marin PD. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Thymus algeriensis* wild-growing in Libya. *Central European Journal of Biology*, 504–511

Gomes A. V. da C., Vieira F da S., Crespi M. P. A. L. de., Coll J. .F C. and Pessoa M. F. (2004). Performance and carcass characteristics of rabbits under different particle size of sugar cane bagasse as fibre source. *Veterinaria Noticias*, 10 (1): 87-92

Gonzalez-Trujano M.E., Pena EI., Martinez AL., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M., Lopez-Munoz FJ. (2007).Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol*. 111: 476-482.

Grand P. (2009). Lavandula Angustifolia et son huile essentielle .Thèse doctorat. Université de Nantes. Faculté de pharmacie 102p.

Gregorc A. and Poklukar J. (2003). Rotenone and oxalic acid as alternative acaricidal treatments for Varroa destructor in honeybee colonies. *Vet. Parasitol.* 111, 351–360.

Greuter W., Burdet H.M. And Long G. (eds.). (1986). *Med-Checklist. A critical inventory of vascular plants of the circum-mediterranean countries. 3. Dicotyledones (Convolvulaceae-Labiatae).* Editions des Conservatoire et jardin botaniques de la Ville de Genève. Secretariat Med-Checklist Botanischer Garten & Botanisches Museum Berlin-Dahlem.

Guesmi F., Ali M.B., Barkaoui T., Tahri W., Mejri M., Ben-Attia M., Bellamine H., Landoulsi A. (2014). Effects of Thymus hirtus sp. algeriensis Boiss. et Reut. (Lamiaceae) essential oil on healing gastric ulcers according to sex. *Lipids Health Dis.* 13, 138–150.

Guignard J.L., Cosson L et Henry M. (1985). Abrégé de phytochimie. Ed. Masson Paris, pp.155-174.

Guillot L., (2009). Les abeilles piquées au vif; compagne n°30, 05P. In <http://www.laligue-alpesdusud.org>

Guinoiseau E. (2010). Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. 50p.

Guy Gilly.(2005). Les plantes aromatique et huiles essentielles a grasse – botanique-culture - chimie-production et marché.préface de hubert richard ;l'harmattan .

H

Hadisoesilo S. and Otis GW. (1998). Differences in drone cappings of *Apis cerana* and *Apis nigrocincta*. *J. Apic. Res.* 37, 11–15.

Hadizadeh I., Peivastegan B and Hamzehzarghani H. (2009). Antifungal activity of essential oils from some medicinal plants of Iran against *Alternaria alternate*. *American Journal of Applied Sciences* 6 (5): pp. 857-861.

Hamaad RFM., Eldoksch HA., Abdel Samed AM and Abdel Moein NM. (2008). Effect of essential oils and a thymol formulation for controlling *Varroa destructor* in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Egypt Journal Agricultural Research*, 86, 951-961

Hamiduzzaman MM., Guzman-Novoa E., Goodwin PH., Reyes-Quintana M., Koleoglu G., Correa-Benítez A and Petukhova T. (2015). Differential responses of Africanized and European honey bees (*Apis mellifera*) to viral replication following mechanical transmission or *Varroa destructor* parasitism. *J. Invertebr. Pathol.* 126: 12–20.

Harbo JR., Harris JW.(2004). Effect of screen floors on populations of honey bees and parasitic mites (*Varroa destructor*). *J. Apicult. Res.* 43 (3), 114–117.

Hayes-Harba R., Bruce L., Smith b., Tessa Bent c and Bradlowd Ann R. (2008). The interlanguage speech intelligibility benefit for native speakers of Mandarin: Production and perception of English word-final voicing contrasts. *Journal of Phonetics* 36 (2008) 664–679

Hazzit M. and Baaliouamer A. (2007). Composition of essential oils of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. and *Thymus numidicus* Poiret from Algeria. *Rivista Italiana EPPOS*, 43, 11–18

Hazzit M., (2002). Arômes alimentaires. *Thèse magister, USTHB*, Alger. 96p.

Hazzit M., Baaliouamer A & Douar-Latreche S. (2013). Effect of heat treatment on the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of Essential Oil Research Volume* 25 (4):308-314

Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo AR., Faleiro ML and Miguel MG. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*, 116, 714-721.

Heng SS., Huang CG., Chen WJ., Kuo YH and Chang ST. (2008). Larvicidal activity of tectoquinone isolated from red heartwood-type *Cryptomeria japonica* against two mosquito species. *Bioresour Technol* 99: 3617–3622.

Heni S., Bennadja S and Djahoudi A. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliatus* growing wild in North Eastern Algeria *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 5 (12), pp. 056-060, December, 2015

Hernández-Ochoa L., Aguirre-Prieto YB., Nevárez-Moorillón G., Gutierrez-Mendez N. (2014). Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. *Journal of Food Science and Technology*, 51(5):957-963.

Hettiarachichi DS. (2008). Volatile oil content determination in the Australian sandalwood industry: Towards a standardised method. *Sandalwood Research Newsletter*, Issue 23; pp.1-4.

Hilan C., Sfeir R., Jawish D et Aitour S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae-Lebanese Science Journal ; Vol.7 ; N°2.

Houmani Z., Azzoudj S., Naxakis G and Skoula M. (2002). The essential oil composition of Algerian Zaâtar: *Origanum* ssp. And *Thymus* ssp. *Journal of herbs, spices and medicinal plants*, 9, 275–280.

Huang Z.J., Curtin K.D. and Rosbash M. (1995). PER protein interactions and temperature compensation of a circadian clock in *Drosophila*. *Science* 267(5201): 1169--1172.

Hudaib M., Speroni E., Pietra AMDi and Cavrini V. (2002). GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variation during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*. 29, 691-700.

Hussain A I. (2009). Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. *Doctorale thesis*, Pakistan; 257p.

Hussain A I., Anwar F., Chatha S A S., Jabbar A., Mahboob S and Nigam P S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* 41: pp.1070-1078.

I

Ibrahim A., Reuter GS., Spivak M. (2007). Field trial of honey bee colonies bred for mechanisms of resistance against *Varroa destructor*, *Apidologie* 38, 67–76.

Ietswaart J H. (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae), chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. In *Leiden Botanical series 4*, Leiden University Press: Le Hague.

Indorf A., Bogdano, S., Kilchenmann V., Berger T. (2006). The acaricidal effect of essential oils from thyme, salvia and hyssops plants (from left to right) have been tested against *Varroa destructor*. *Alp science*, Nr. 495. 18p.

Indorf A., Bogdanov SO., Choa RI and Calderone NW. (1999). Use of essential oils for the control of *V. jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidology*, 30, 209- 228

Iori A., Grazioli D., Gentile E., Marano G and Salvatore G. (2005). Acaricidal properties of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree oil) against nymphs of *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology*, 129, 173-176

Iriti M., Colnaghi G., Chemat F., Smadja J., Faoro F. & Visinoni F. (2006). "Histo-cytochemistry and scanning electron microscopy of lavender glandular trichomes following conventional and microwave-assisted hydrodistillation of essential oils: a comparative study." *Flavour and Fragrance Journal* 21(4): 704-712.

Isman M B. (2006). Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev. Entomol.*, 51, pp.45–66.

Iva AJ., Almeida DL., Ronchi SN., Bento AC., Scherer R., Ramos AC., Cruz ZMA. (2010). The essential oil of Brazilian pepper, *Schinus terebinthifolia* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). *Parasit Vectors* 2010, 3: 79.

J

Jaafari A., Ait Mouse H., Rakib EM., AitM'barek L., Tilaoui M., Benbakhta C., Boulli A., Abbad A and Ziyad A. (2007). Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. *Revista Brasileira de Farma cognosia* 17, 477–491.

James A., Pitchford JW and Plank MJ. (2013). Disentangling nestedness" disentangled. *Nature*. 22;500(7463):E2-3.

Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. (2006). Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique, volume 1. Ed. *Tec. & Doc.*, Lavoisier, pp. 95–151.

Jean, G.J. Collin, D. LOR, (1992). Huiles essentielles et extraits micro-ondes. *Parfumer & Flavorist*, 17, 35-41.

Joulain D. and König WA. (1998). *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*. E.B. – Verlag Hambourg

Juárez ZN., Bach H., Sánchez-Arreola E., Bach H and Hernández LR .(2016). Protective antifungal activity of essential oils extracted from *Buddleja perfoliata* and *Pelargonium graveolens* against fungi isolated from stored grains. *J Appl Microbiol.*;120 (5):1264-70. doi: 10.1111/jam.13092

K

Kanga., LHB., Jones WA and Gracia, C.(2006). Efficacy of strips coated with *Metarhizium anisopliae* for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies in Texas and Florida. *Exp. Appl. Acarol.* 40 (3–4), 249–258.

Kanga LHB., Jones WA and James RR. (2003). Field trials using the fungal pathogen, *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes: Hyphomycetes) to control the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies. *J. Econ. Entomol.* 96 (4), 1091–1099.

Kefuss J., Vanpoucke J., Bolt M. and Kefuss C. (2009). Sélection pratique à la résistance au *Varroa* pour les apiculteurs. Dans le programme scientifique du 41 eme Congrès Apimondia , Montpellier, p82

KevanS D., Nasr,M E., Kevan P G andTrevino, J D. (2003). Microencapsulated medicines for beneficial insects.In Downer,R A; Mueninghoff,J C; Volgas, G G (eds) Pesticide formulations and delivery systems: meeting the challenges of the current crop protection industry. ASTM International, West Conshohocken, PA; pp. 154–162.

Kintzios Spiridon.E.(2002). Oregano: The genera *Origanum* and *Lippia* (Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles)- London, UK: Taylor & Francis.

Koedam.A.(1987). Some aspects of essential oils preparation in capillary gas chromatography in essential oils analysis. Ed. P. Sandra, C. Bicchi. Herdelberg. New York.

Koeniger N., Koeniger G and Wijayagunasekara NHP. (1981). Beobachtungen über die Anpassungvon *Varroa jacobsoni* an ihren natürlichen Wirt *Apis cerana* in Sri Lanka. *Apidologie* 12, 37-40

Kokkini S. (1996). Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano, 8 — 12 May 1996, *Padulosi S (ed.). CIHEAM:• Valenzano, pp 2 —12.*

Koschier E. H. (2008). Essential oil compounds for thrips control – A review. *Nat. Prod. Commun.*, 3, pp.1171-1182.

Kozac P., Eccles L., Tam J., Kemper M., Rawn D., Guzman E., Kelly P. (2012).*Varroa-mite sampling and monitoring infestation levels.* OMAFRA Infosheet Ontario, Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs

Ksouri W M., Najla T., Khaoula M., Soumaya B., Amira N., Mejdi S., Rahma B., Olfat T and Ksouri R. (2015). *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*. Volume 63, January 2015, Pages 104-113

Kulšić T., Dragović-Uzelac V and Miloš M. (2006). Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol. Biotechnol.* **44** (4): 485-492.

Kutta, G., Pluhar Z et Sarosi, S. (2007). Yield and composition of supercritical fluid extracts of different Lamiaceae herbs. *International Journal of Horticultural Science*, 13(2), 79-82.

Kutukoğlu F., Girişgin A O and Aydın L. (2012). Varroacidal efficacies of essential oils extracted from *Lavandula officinalis*, *Foeniculum vulgare*, and *Laurus nobilis* innaturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies Turk. *J. Vet. Anim. Sci.* 36(5): 554-559 TUBİTAK doi: 10.3906/vet-1104-12.

Kweka EJ., Nyindo M., Mosha F and Silva AJ. (2011). Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. *Parasit Vectors* 2011, 4: 129

L

Lahlou M. (2004). Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18, p.p. 435-448.

Lamiri A., Lhaloui S., Benjilali B. and Berrada M. (2001). Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola Destructor* (Say). *Field Crops Res.*, **71**, 9-15.

Lang G. and Buchbauer G. (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Frag. J.* 27, 13–39.

Lawrence B N. (1984). Major tropical species. *Perfumer and Flavorists* 9, 5, 1-40.

Le Conte Y., Arnold G., Trouiller J., Masson C., Chappe B., Ourisson G. (1991). In: The behaviour and physiology of bees (Goodman LJ and Fischer RC, eds), CAB International, London, 69-76

Le Conte Y., Bécard JM., Costagliola G., De Vaublanc G., El Maâtaoui M., Crauser D., Plettner E., Slessor KN. (2006). Larval salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften* 93, 237–41.

Le Conte Y., Bocquet M and Jeanne F. (2000). Résultat de l'Enquête sur la tolérance éventuelle des colonies à *Varroa*, *Bull. Tech. Apic. Opida* 135–137

Lee SJ., Umamo K., Shibamoto T., Lee KG. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem*; 91:131-137.

Lis-Balchin M. (2002). Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. p: 37, 40, 50, 155-200.

Liu XC., Dong HW., Zhou L., Du SS and Liu ZL. (2013). Essential oil composition and larvicidal activity of *Toddalia asiatica* roots against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol*, 112: 1197 – 1203.

Liu ZH and Nakano H.(1996). Antibacterial activity of herbs extracts against food-related bacteria. *J Fac Appl Biol Sci Hiroshima Univ* 1996, 35, 181-190.

Lodesani M., Colombo M and Spreafico M. (1995). Ineffectiveness of Apistan treatment against the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in several districts of Lombardy (Italy), *Apidologie* 26, 67–72.

Lardry J-M, Haberkorn V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*; 61 : 14-7.

Lodesani, M. (2004). Control strategies against *Varroa* mites. *Parassitologia*, 46: 277–279

Lodesani M. and Costa C. (2005). Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. *Bee World* 84:102-109.

Lodesani M., Costa C., Serra G., Colombo R and Sabatini AG. (2008). Acaricide residues in beeswax after conversion to organic beekeeping methods. *Apidologie* 39:324-333

Loïc G. (2006). Les plantes et les médicaments. L'origine végétale de nos médicaments. Edit: Delachaux et Niestlé. Collection: Les guides du naturaliste .P:252.

Lucchesi ME. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes : Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline : Chimie, Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, Pp19.

Luicita Rivera. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat en Sciences des Agroressources institut national polytechnique de Toulouse, Pp335.

Lva Aj., Almeida DI., Ronchi Sn., Bento Ac., Scherer R., Ramos Ac and Cruz Zma. (2010). The essential oil of Brazilian pepper, *Schinus terebinthifolia* Raddi in larval control of *Stegomyia aegypti* (Linnaeus, 1762). *Parasit Vectors* 2010, 3: 79.

M

Macedo PA., Wu J and Ellis MD. (2002). Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *J. Apicult. Res.* 41, 3-7.

Mackowiak C. (2009). Le déclin de l'abeille domestique *Apis mellifera* en France. *Thèse Doct.Pharm.* Université Henri Poincaré, Nancy 1

Madani S., Boudjelal A, Hendel N et Sarri D.(2011). Chemical composition of essential oils of *Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart from three extraction methods (Hydrodistillation, Basic Wash and SPME)

Madi A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques thèse de magister 100p.

Maffei et Sacco.(1988).Perfumer and flavorist, Oct/Nov 1988, Vol. 13, N° 5, P. 61.

Maggi M D., Ruffinengo S R., Negri P and Eguaras M J. (2010). Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* of Argentina. *Parasitol. Res.*, 107(5): 1189-92. DOI: 10.1007/s00436-010-1986-8.

Mahmoud A. E. M. and Bendary MM. (2014). Effect of whole substitution of protein source by *Nigella sativa* meal and sesame seed meal in ration on performance of growing lambs and calves. *Global Veterinaria*, 13 (3): 391-396

Mahmood N., Ahmad B., Hassan S and Bakhsh K. (2012). Impact of temperature and precipitation on rice productivity in rice-wheat cropping system of Punjab province. *TheJournal of Animal and Plant Sciences*, 22(4), 993-997.

Mancini E., Senatore F., Donato Del Monte., De Martino L., Grulova D., Scognamiglio M., Mejdí Snoussi and De Feo V. (2015). Studies on Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Five *Thymus vulgaris* L. Essential Oils. 20, 12016-12028

Mansour S A., Messeha S S and El-Gengaihi S E.(2000). Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. *botanical biocides J Nat Tox* 2000; 9: 49-62.

Mathieu L. et Faucon JP. (2000). Changes in the response time for *Varroa jacobsoni* exposed to amitraz. *Journal of Apicultural Research* 39, (3-4), 155-158.

Marie-Elisabeth Lucchesi. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Autre. These doctorat .147p.Université de la Réunion.

Martel S., Mathieu J-B., Felfoul O., Chanu A., Aboussouan É., Tamaz S., Pouponneau P., Beaudoin G., Soulez G., Yahia L'H and Mankiewicz M. (2007). Automatic navigation of an untethered device in the artery of a living animal using a conventional clinical magnetic resonance imaging system. *Appl Phys Lett.* ; 90:114105–7.

Martin S. J. (1998). A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling*,109, 267-281

Martin S.J. (1995). Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. *J. Apicult. Res.* 34, 187–196.

Maurya P., Sharma P., Mohan L., Batabyal L and Srivastava C N (2009). Evaluation of the toxicity of different phytoextracts of *Ocimum basilicum* against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *J Asia-Pacific Entomol* 2009 ; 12: 113-5.

Meullemiestre A.(2014). Valorisation des déchets de la filière « bois » en deux étapes : Isolation des molécules extractibles puis Fabrication de charbon actif. Cas du pin maritime. Thèse de Doctorat en Génie des Procédés. Université de La Rochelle, Pp244.

- Milani N. and Barbattini R. (1988).**Effectiveness of Apistan (fluvalinate) in the control of *Varroa jacobsoni* Oudemans and its tolerance by *Apis mellifera* Linnaeus. *Apicoltura* 4, 39-58
- Milani N. and M. Iob. (1998).**Plastic strips containing organophosphorous acaricides to control *Varroa jacobsoni*: a preliminary experiment. *Am. Bee. J.* 135: 612-615.
- Milani N. (1999).** The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. To acaricides. *Apidologie* 30, 229-234.
- Milani N. and Della Vedova G.(2002).**Decline in the proportion of mites resistant to fluvalinate in a population of *Varroa destructor* not treated with pyrethroids.*Apidologie* 33 (2002) 417-422. DOI: 10.1051/apido:2002028
- Miller R.E., Mc Conville M.J and Woodrow I.E. (2006).** Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae)-Phytochemistry; Vol. 67; pp 43-51.
- Milos M., Mastelic J and Jerkovic I. (2000).** Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*). *Food Chemistry*, 71, 79–83.
- Mohammadi A., Ahmadzadeh Sani T., Ameri AA., Imani M., Golmakani E and Kamali H .(2015).** Seasonal variation in the chemical composition, antioxidant activity, and total phenolic content of *Artemisia absinthium* essential oils. *Pharmacogn Res.* 7:329–34.
- Mohammed Z. et Atik F.(2011).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l’huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue « Nature & Technologie ».* n° 06/Janvier 2012. Pages 34 à 39.
- Mozes-Koch R., Slabezki Y., Efrat, H. Kalev H., Kamer Y., Yaskoban B. A and A. Dag. (2000).** First detection in Israel of fluvalinate resistance in the *Varroa* mite using bioassay and biochemical methods. *Exp. Appl. Acarol.* 24: 35-43.
- Muhammad A., Qasim A., Farooq A. and Ijaz A. H. (2010).**Composition of Leaf Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* *Asian Journal of Chemistry* Vol. 22, No. 3, 1779-1786
- Munoz I., Garrido-Bailon E., Martin-Hernandez R., Meana A., Higes M., De la Rua P. (2008).**Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. *J. Apicult. Res.* 47 (4), 310–313.
- Murugan K., James Pitchai G., Madhiyazhagan P., Nataraj T., Nareshkumar A., Jiang-Shiou H., Chandrasekar R., Nicoletti M., Amsath A. and Ranjeet B. (2014).** larvicidal, repellent and smoke toxicity effect of neem products against malarial vector, *Anopheles stephensi**International Journal of Pure and Applied Zoology* ISSN (Print): 2320-9577 Volume 2, Issue 2, pp: 71-83, 2014

N

Naghdi Badi H., Yazdani D., Mohammad Ali S. and Nazari F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products* 19: 231–236.

Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S. et Ghorbani A-Labiatae (2005). Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceutical research ;, vol. 2; pp 63-79.

Nanetti A., Bu'chler R., Charriere J.D., Fries I., Helland S., Imdorf A., Korpela S. and Kristiansen P. (2003). Oxalic acid treatments for varroa control (Review). *Apiacta* 38, 81–87.

Nasr M. and Wallner K. (2003). Residues in Honey and Wax: Implications and Safety, Proc. of the North American Apicultural Research Symposium, *Am. Bee J.* 143, 322.

Navajas M., Migeon A., Estrada-Pena A., Mailleux A C., Servigne P. and Petanović R. (2010). Mites and ticks (Acari). Chapter 7.4. In: Roques A et al. (Eds) Arthropod invasions in Europe. *BioRisk* 4(1): 149–192.

Ngamo L-ST. et Hance T-H-H. (2007). Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives en milieu tropicale. *Journal of Tropicultura*, 25(4) pp 215-220.

Nhu-Trang T., Casabianca H. & Grenier-Loustalot M. F. (2006). Deuterium/hydrogen ratio analysis of thymol, carvacrol, γ -terpinene and p-cymene in thyme, savory and oregano essential oils by gas chromatography– pyrolysis–isotope ratio mass spectrometry. *J. Chromat. A*, 1132, pp.219–227.

Nickavar B., Mojab F. and Dolatabadi R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*, 90 :609-611.

Nicolas J. and Billaud C. (2006). Brunissement enzymatique-Prévention. In « *Les polyphénols en agroalimentaire* », Ed. : Lavoisier, ISBN : 2-7430-0805-9, pp: 173-196.

Nielsen P.V. and Rios R.(2000). Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *Int. J. Food Microbiol.*, **60**, 219-229.

Nikolić M., Glamočlija J., Ferreira ICFR., Fernandes Â., Marković T., Marković D., Giweli A. and Soković M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183– 190

Noel R. and Amrine JW. (1996). Formic acid fumigator for controlling honey bee mites in bee hive. Biology research in the UK. *American Bee Journal*, 137, 382-385

Nogaret-Ehrhart A-S. La phytothérapie (2008). Se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.

Noireterre P. (2011). Biologie et pathogénie du *Varroa destructor*, *Bulletin des GTV*, 62, 101-106

O

Odile Fayolle Poncet. M. (2009). Evaluation de l'exposition au risque chimique lors de la lutte contre le varroa en apiculture .Enquête auprès des apiculteurs de l'Ardèche et de la Loire.INMA. Mémoire 47 p.

Oldroyd B.P. (1999). Coevolution while you wait: *Varro jacobsoni*, a new parasite of western honeybees,Trends Ecol. Evol. 14, 312–315.

Otis G. W. and Scott-Dupree C. D. (1992). Effects of *Acarapis woodi* on overwintering colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in *New York. J. Econ. Entomol* 40–46. 85

Otten C. (1991). Vergleichende Untersuchungen zum Populations wachstum von *Varroa jacobsoni* Oud. in Völkern von *Apis mellifera* L unterschiedlicher geographischer Herkunft. Ph D Thesis, JW Goethe P23 Universität, Frankfurt, Germany cité par Gerarde Donze ;1995 ; « adaptation de comportement de l'acarien ectoparasite *Varroa jacobsoni* durant sa phase de reproduction dans les alvéoles operculés » P09.

Oudemans A.C. (1904). Note VIII. On a new genus and species of parasitic Acari (*Varroa*), Notes from the Leyden Museum XXIV, pp. 216–222.

Ouibrahim A.(2015). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Diplôme de Doctorat, université Badji Mokhtar – Annaba, Spécialité : Toxicologie

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M.(2006).Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Sci.* 73:236–244.

P

Padrini F. et Lucchioni N. (2003). Le grand livre des huiles essentielles: Médecine douce, bien être. Edition de Vecchi S-A. PARIS.

Padrini F. et Lucheroni M. T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies.Ed. De Vecchi, Paris, pp.11, 15, 61 et 111.

Pamphile M., Randrianasolonjanahary H. et Razafindrajaona J M. (2009). Etude des substances Actives de *Cinnamosma* fragrans. Actes du symposium biomad. Université de mahajang. 22p.

Papageorgio V. (1980). GLC-MS computer analysis of the essential oil of *Thymus capitatus*. *Planta Medica Suppl.*, 29-33.

Paul Schauenberget Ferdinand Paris (2008).Guide des plantes médicinales .Espagne . Isbn :978-2-603-01454-4 .p 295-296.

- Perry N. B., Anderson R. E., Brennan N. J., Douglas M. H., Heaney A. J., Mc Gimpsey J. A. and Smallfield B. M. (1999).** Essential Oils from Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.) : Variations among Individuals, Plant Parts, Seasons, and Sites. *Journal Agric. Food Chem.* 47 (5), 2048–2054.
- Petropoulos, S.A., Dimitra Daferera M.G., Polissiou and PassamH.C. (2008).** The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Sci. Hort.*, 115: 393–397
- Pierre Giovenazzol, Jocelyn Marceau et Sylvain Dubé (1999).** Essais préliminaires sur le traitement de colonies d'abeilles *Apis mellifera* infestées par le parasite *Varroa jacobsoni* en chambre d'hivernage revue l'abeille hiver 1998-1999.
- Pierron C. (2014).** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gériatologie et soins palliatifs. Université De Lorraine, Faculte De Pharmacie. 253p
- Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M.J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Palmeira A., Rodrigues A. and Martinez-de-Oliveira J., (2006).** Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 55, pp. 1367–1373. 13-51.
- Piochon M. (2008).** Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire de maîtrise, option ressources renouvelables. Université du Québec à Chicoutimi
- Pizzale L., Bortolomeazzi R., Vichi S., Uberegger E and Conte L.S. (2002).** Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. *Journal Science Food Agricultural*. 82, 1645-1651.
- Pohorecka K. and Bober A. (2008).** Porównanie wrażliwości populacji *Varroa destructor* pochodzących z pasiek leczonych amitrazem i fluwalinatem. [Amitraz sensitivity of *Varroa destructor* populations from apiaries treated with amitraz and fluvalinat]. In *Materiały z XLV Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy, Poland*, 11-12 marca, 2008, pp. 83-85.
- Popovic A., Šucur J., Orcic D And Štrbac P. (2013).** Effects of essential oil formulations on the adult insect *tribolium castaneum*(herbst) (col., tenebrionidae) *journal of central european agriculture*, 14(2), p.181-193 doi: 10.5513/jcea01/14.2.1246
- Porter N. (2001).** - Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39.
- Potts S.G., Biesmeijer J.C., Kremen C., Neumann P., Schweiger O. and W.E. Kunin. (2010).**“Global pollinator declines: trends, impacts and drivers.” *Trends in Ecology and Evolution* 25:345-353.
- Poulose AJ., Croteau R. (1978).**Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of gamma-terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. *Arch Biochem Biophys.* 30;187(2):307-14
- Prost J. (1987).** Apiculture. Ed. J.-B. Baillière. 497p.

Q

Quézel P. and Santa S. (1963).Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

R

Rademacher E., and Imdorf A. (2004). Legalization of the use of oxalic acid in Varroa control. *Bee World* 85, 70–72

Rhayour K. (2002).Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p

Roulier G. (1990). Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles,

Rajgovind S., Gaurav S., and Nakuleshwar Dut Jasuja. (2016). Essential Oil Yield Pattern and Antibacterial and Insecticidal Activities of *Trachyspermum ammi* and *Myristica fragrans*. Volume 2016 Article ID 1428194, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1428194>

Ram M., and Patton D. (2003).*A Business Support Strategy for Black and Minority Ethnic Enterprises in Leicestershire*. Leicester: Business Link Leicestershire andLincolnshire.

Ram S., and Ramawatar (2012). Role of vermicompost in crop production - A review.*Int. J. Trop. Agric.*30(3-4):143-146.

Ram S., Verma, Rajendra C Padalia and Amit Chauhan (2012). Analysis of the Hydrosol Aroma of Indian Oregano. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2012, 1:7 DOI: 10.4172/2167-0412.1000112.

Rao BR., Kaul PN., Syamasundar KV., Ramesh S. (2002). Water soluble fractions of rose-scented geranium (*Pelargonium* species) essential oil.*Bioresour Technol.* ;84 (3):243-6

Rao S. G., Bachhawat AK., Gupta C.M. (2002). Two-hybrid-based analysis of protein-protein interactions of the yeast multidrug resistance protein, Pdr5p. *Funct Integr Genomics* 1(6):357-66

Rao, S. V. R., Sunder, G. S., Panda, A. K. ; Reddy, M. R. ; Raju, M. V. L. N. ; Praharaj, N. K. (2002). Utilization of different millets replacing maize in coloured broiler chicken diet. *Indian J. Anim. Nutr.*, 19 (4): 353-358

Rashid C A., Qureshi M Z., Raza S A., William J. and Arshad M. (2010).Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universităţii dinBucureşti – Chimie (serie nouă)*, vol. 19 №1, pp. 23-30.

- Ritter W. et Ruttner F. (1980).** Neue Wege in der Behandlung der Varroatose. ADIZ, Sonderheft Varroatose, 151-155.
- Ritter W., Perschil F., Koeniger N. & Rafiroiu R. (1986).** —Bekämpfung der Varroatose mit Pyrethrin Extrakten. ADIZ, 1, 22-24.
- Ruberto, G., Tiziana Baratta, M., Sari, M. et Kaabeche M. (2002).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour and fragrance journal. 4: 251-254.
- Ruberto, G., A. Renda, C. Daquino, V. Amico, C. Spatafora, C. Tringali, and N. Tommasi. (2007).** Polyphenols constituents and antioxidant activity of grape pomace from five Sicilian red grape cultivars. Food Chemistry, Barking, v.100, p.203-210
- Richard H. (1974).** Quelques espèces et aromates et leurs huiles essentielles. *Serie synthèse bibliographiques, C. D. U P. A., pp 2.*
- Robaux P. (1986).** Varroa et varroatose ; ed : oppida ;282 p.
- Robaux P. (1986).** La lutte contre le *Varroa jacobsoni*, son avenir. Abeille de France; 711. pp: 543-544.
- Robaux P. (1988).** *Varroa jacobsoni*: Problems with diagnosis and control in Europe. In *Africanized Honey Bee and Bee Mites*. Nedham G, Page R, Delfinado - Baker M, Bowman CE. (Eds). Ellis Horwood, Chichester, U.K, 370-372.
- Rodolfo-Metalpa R., Richard C., Alleman, D., Bianchi C. N., Morri C. and Ferrier-Pagès C. (2006).** Response of zooxanthellae in symbiosis with the Mediterranean corals *Cladocora caespitosa* and *Oculina patagonica* to elevated temperatures. *Mar. Biol.* 150,45 -55.
- Rodríguez-Dehaibes S., G. Otero-Colina, V. Sedas and J. Jiménez (2005).** Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, México. *Journal of Apicultural Research*, 44: 124-125.
- Rosenkranz P., Aumeier P., et Ziegelmann B., (2010).** Synthese des méthodes actuelles de contrôles de l'infestation par *Varroa destructor*. *J Invertebr Pathol.* 103-1:P96-119
- Rosenkranz P., Fries I., (2005).** Does a four year selection in a closed honey bee population lead to Varroa tolerance? Test of queens deriving from surviving colonies. In: IUSSI-Tagungsband, ISBN 3-901864-02-4, Halle.
- Rosenkranz T., Katranidis A., Atta D., Gregor I., Enderlein J., Grzelakowski M., Rigler P., Meier W., Fitter J.(2009).** Observing proteins as single molecules encapsulated in surface-tethered polymeric nanocontainers. *Chembiochem* 10(4):702-9
- Russo M., Guido C. Galletti., Paola Bocchini et Alberta Carnacini (1998).** Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences in *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46 (9) · August 1998 with 101 Reads [DOI: 10.1021/jf980087w](https://doi.org/10.1021/jf980087w)

Ryabov EV., Wood GR., Fannon JM., Moore JD., Bull JC., Chandler D., Mead A., Burroughs N and Evans DJ. (2014). A Virulent Strain of Deformed Wing Virus (DWW) of Honeybees (*Apis mellifera*) Prevails after *Varroa destructor*- Mediated, or *In Vitro*, Transmission. PLoS Pathog 10(6): e1004230. [https://doi.org/ 10.1371/ journal. ppat. 1004230](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004230)

S

Saidj F. (2006).Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus* kabylica-Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Université Boumerdes, Algérie.

Sakthivadivel M. and Daniel T. (2008). Evaluation of certain insecticidal plants for the control of vector mosquitoes viz. *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Appl Entomol Zool* 2008; 43 : 57-63.

Sammataro D., Finley J., Leblanc B., Wardell G., Ahumada-Segura, F., J and Carroll, M. (2009). Feeding essential oils and 2-heptanone in sugar syrup and liquid protein diets to honey bees (*Apis mellifera* L.) as potential *Varroa* mite (*Varroa destructor*) controls *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48(4): 256-262.

Sammataro D., Untalan P., Guerrero F., Finley J. (2005). The resistance of *Varroa* mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *Int J Acarol.* 2005; 31:67–74. doi: 10.1080/01647950508684419.

Santosh Shiwakoti Valtcho D. Zheljzkov Vicki Schlegel Charles L.Cantrell (2016).Growing spearmint, thyme, oregano, and rosemary in Northern Wyoming using plastic tunnels.Industrial Crops and Products.Volume 94, 30 December 2016, Pages 251-258.

Sarri M .(2011).Chemical composition of essential oils of *Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart from three extraction methods (Hydrodistillation, Basic Wash and SPME). Université Hassiba BEN BOUALI Chlef, Séminaire national «préservation et valorisation des ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal », DOI:10.13140/RG.2.2.29932.97924

Sari M. (1999). Etude ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le Tel! Sétifien (Algérie). *Thèse de Magister*, université de Sétif

Satta A., Floris I., Eguaras M., Cabras P., Garau V. L., Melis M. (2005).Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean Area. *J. Econ. Entomol.* Vol. 98 (2). P. 267–273.

Scandian L., Ratnieks F.L.W. (2015). Towards integrated control of *Varroa*: 2. Comparing application methods and doses of oxalic acid on the mortality of phoretic *Varroa destructor* mites and their honey bee hosts. *Journal of Apicultural Research*, 54, 108-120

Sari M., Biondi M. D., Kaâbeche M., Mandalari G., D'Arrigo M. D., Bisignano G., Saija A., Daquino C, Ruberto G. (2006).Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf..*Flavour and Fragrance* 1,21: 890-898.

Stahl-Biskup E. & Saez F., (2002). *Thyme. The genus Thymus*. London; New York, USA: Taylor & Francis.

Sayah M Y., El Ouali Lalami A., Greech H., Errachidi F., Rodi El Kandri And Ouazzani Chahdi (2014). Activite Larvicide des Extraits de Plantes Aromatiques sur les Larves de Moustiques Vecteurs de Maladies Parasitaires Larvicidal Activity of Aromatic Plant Extracts on Larvae of Mosquitoes Vectors of Parasitic Diseases International Journal of Innovation and Applied Studies ISSN 2028-9324 Vol. 7 No. 3 Aug. 2014, pp. 832-8422014 Innovative Space of Scientific Research Journals <http://www.ijias.issr-journals.org/>.

Seban C., Fléché, Faucon. J.-P, Flamini C., Polvéron G. (1988). i. Présentation au congrès Apimondia Rio de Janeiro octobre 1989. Publication : Abeille de France (N° 731) .

Shaw K.E., Davidson G., Clark S.J., Ball B.V., Pell J.K., Chandler D., Sunderland K.D. (2002). Laboratory bioassays to assess the pathogenicity of mitosporic fungi to *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasitic mite of the honeybee, *Apis mellifera*. J. Biol. Contr. 24, 266–276.

Silano V. and Delbò M. (2008). Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London ; 23p.

Silou T. (2003). Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles d'*E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Université **Marien Ngouabi**. Faculté des sciences, pp. 1-6.

Silva B., Silva, T., Franco E.S., Rabelo S., Lima E.R., Mota R., Câmara C.G.D., Pontes Filho N.T., Lima Filho J.V. (2010). Antibacterial activity, Chemical composition and cytotoxicity of leave's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi). Braz. J. Microbiol., 41, 158-163.

Simoneau A. (2004). La Varroase, MAPAQ- CQIASA. Laboratoire de pathologie animale. 19pp <http://www.agrireseau.qc.ca/apiculture/documents/Varroase>

Skoula. M., Gotsiou. P., Naxakis G., Johnson B.C. (1999). A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). Phytochemistry, 52 (4) (1999), pp. 649-657

Sman MB. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Ann Rev Entomol, 51: 45 – 66.

Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Control, 15(8), 627–634.

Song Ja-Eun Kim, Jeong-Moon Lee, Na-Hyun Yang, Ji-Yeon Lee, Hoi-Seon (2016). Acaricidal and Insecticidal Activities of Essential Oils against a Stored-Food Mite and Stored-Grain Insects. Journal of Food Protection®, Number 1, January 2016, pp. 4-178, pp. 174-178(5)

Souza T.S., Chaves M.A., Bonomo R.C.F., Soares R.D., Pinto E.G., Cota Osmotic I.R. (2009). Dehydration of frutículos jackfruit (*Artocarpus integrifolia* L.): Application of mathematical models. Acta Scientiarum Technology, 31, pp. 225-230

Spreafico M., Eordegh FR., Bernardinelli I and Colombo M. (2001). First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. *Apidologie* 32: 49-55.

Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Facanali R., Meireles M.A.A., Moura L.S., Marchese J.A. and Sousa L.A. (2006). Essential oil constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*). *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, Vol.8, pp.193- 198.

Strapazzon R., Carneiro F.E., Guerra-Júnior J.C.V and Moretto G. (2009). Genetic characterization of the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) collected from honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Gen. Mol. Res.*, V.8, p. 990-997,

Svoboda K. P. and Hampson J. B. (1999). Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars>.

Svoboda K.P., Svoboda T.G., Syred A. (2000). *Secretory structures of aromatic and medicinal plants*. Microscopix Publications. 60p.

T

Tamert A., · Latreche A. and · Aouad L. (2017). Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Extracts of *Thymus serpyllum* and *Thymus vulgaris* from the Mount of Tessala (Western Algeria). *Phytothérapie* (2017) 15:384-394. DOI 10.1007/s10298-017-1132-1

Teixeira B, Marques A, Ramos C, Serrano C, Matos O, Nuno R, Nogueira NMF, Saraivab J A and Nunesa M L.(2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. [wileyonlinelibrary.com/jsfa c_ 2013](http://wileyonlinelibrary.com/jsfa_c_2013) Society of Chemical Industry *J Sci Food Agric* p1-8

Tepe B., Sihoglu-Tepe A., Daferera D., Polissiou M and Sokmen A. (2007). Chemical composition and activity of the essential oil *Clinopodium vulgare* L. *J. Food Chem*, 103, 766-770.

Tentcheva D., Gauthier L., Jouve S., Canabady-Rochelle L., Dainat B., Cousserans F., Colin M., Ball B, and Bergoin M (2004). Polymerase chain reaction detection of deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie* 35:431-439.

Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2004). *Plantes aromatiques: Epices, aromates condiments et huiles essentielles*. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

Timothy A .Ebert1., Peter G Kevan., Bert L Bishop., Sherrene D Kevan., and Roger .(2007). A Downer Oral toxicity of essential oils and organic acids fed to honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research and Bee World* 46(4): 220–224 (2007)

Thompson J., Charpentier A., Bouguet G., Charmasson F., Roset S., Buatois B., Vernet P and Gouyon, P.- H. (2013). Evolution of a genetic polymorphism with climate change in a Mediterranean landscape. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 2893–2897

Thompson R. K ., McKinnon J. J., Mustafa A. F. , Maenz D. D., Racz, V. J and Christensen, D. A. (2002). Chemical composition, ruminal kinetic parameters, and nutrient digestibility of ammonia treated oat hulls. *Can. J. Anim. Sci.*, 82 (1): 103-109

Topolska G.(2001).*Varroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000); the change in classification within the genus *Varroa* (Oudemans,1904). *Wiad. Parazytol.*, **47**, 151-155.

Touaibia M. (2014).Composition chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur milieu de laboratoire et sur les fruits du fraisier.*Revue « Nature &Technologie» .B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 12/ Janvier 2015, Pages 66à 72*

Toumanoff C. (1939). Les ennemis des abeilles. Editions I.D.E.O., Hanoï, 178 p.

Traboulsi Af., Taoubi K., El-Haj S., Bessiere Jm. and Salma R. (2002). Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *PestManagement Sci* 2002; 58 : 491-5.

Turgut Dunford N. and Silva Vazquez R. (2005). Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. *J Appl Hortic* 7:20–22.

U

Udomsilp J., Piyo A J., Khang-Khun P. and Thobunluepop P. (2009).Antifungal properties of essential oils from Thai medical plants against rice pathogenic fungi. *As. J. Food Ag-Ind.* 2009, Special Issue, S24-S30

V

Van der Geest, L.P.S., Elliot, S.L., Breeuwer, J.A.J., Beerling, E.A.M. (2000).Diseases of mites. *Exp. Appl. Acarol.* 24, 497–560.

Vandame J. (2010). Lutte contre Varroa – Efficacité des médicaments AMM. *La Santé de l'Abeille.* 237 : 187-198.

Vandamme, P., Pot .B., Gillis. M and De Vos. P. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* June 1996 vol. 60 no. 2 407-438

Vassart - Van Snick (2012). Aromathérapie; I.P.I. Besançon, 05/2012

Veres K., Varga E., Dobos A., Hajdu ZS., Nemeth E and Szabo K .(2003). Investigation of the Composition and Stability of the Essential Oils of *Origanum vulgare* ssp.*vulgare*L. and *O. vulgare* ssp. *hirtum* (Link) letsvaart, *Chamotogr.* 57: 95-98.

Verma R.S., Chauhan A., Verma R.K and Yadav A.K.(2010). Volatile Terpenoid Composition of *Origanum vulgare* L. Derived from Top, Middle and Lower Portions of the Plant Cultivated in *Uttarakhand.* *Jeobp* 13 (6) 2010 pp 692 – 698.

Verma R.S., Padalia R.C., Et Chauhan A., (2012). Volatile constituents of *Origanum vulgare* L., 'thymol' chemotype: variability in North India during plant ontogeny. *Natural Product Research* Vol. 26, No. 14, 1358–1362.

Vila-Aiub MM., Neve P and Powles SB. (2009). Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytol.* ;184:751–767

Vokou D., Kokkini S and Bessiere J. M. (1993). Geographical variation of Greek Oregano (*O. vulgare ssp. hirtum*) essential oils. *Biochem. System. Ecol.*, 21: 287 —295.

W

Wegrzyn R., Lamendinh H. (2005). Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Chir. Dent. Fr*; 1225 :62-66
Weller S. (2008). Populationsdynamik der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* in vorselektierten Bienenvölkern (*A. mellifera* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Reproduktion. Master Thesis at the Faculty of Biology at the University of Hohenheim, 97 pp.

Wendling S. (2012). *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de Doctorat vétérinaire, Alfort, Créteil : Université Paris- Est Créteil Val de Marne, 2012. 187 p.

Wendling S. (2014). Les particularités de la reproduction de *Varroa destructor*, agent de la varroose de l'abeille domestique. perspectives de lutte reproductive features of *Varroa destructor*, agent of honeybee varroosis. prospects for control. *Bull. Acad. Vét. France — 2014 - Tome 167 - N°4* <http://www.academie-veterinaire-defrance.org>

Whittington, I. D., Chisholm, L. A and Rohde, K. (2000). The larvae of Monogenea (Platyhelminthes). *Advances in Parasitology* 44, 139–232.

Wichtl M. et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Editions Tec. & Doc. – EM Inter, 2e édition, 788 p.

X

Xin Chao Liu, Qiyong Liu, Ligang Zhou, and Zhi Long Liu. (2014). Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Allium macrostemon* Bunge and its selected major constituent compounds against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasites & Vectors* 2014, 7:184

Y

Yakhlef G. (2010). Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L et *Laurus nobilis* L thèse de magister , université el hadj llakhdar batna. p1,2,5,6,7 .

Yanishlieva NV., Marinova EM., Gordon MH and Raneva VG. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem*; 64:59–66.

Z

Zaitoun AA and Madkour MH. (2012). Acaricidal activity of some plant extracts on parasitic bee mite, *Varroa destructor*. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10, 1153-1155

Zayyad N., Farah A and Bahhou J. (2014). Chemical analysis and antibacterial activity of essential oils from three species of Thymus: *Thymus zygis*, *T. algeriensis*, and *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 83, 2014, 118-132

Zhou X., Zhou B., Truman J.W and Riddiford L.M. (2004). Overexpression of broad: a new insight into its role in the Drosophila prothoracic gland cells. *J. Exp. Biol.* 207(7): 1151--1161.

Zhu Y., Sun J., Zhu Y and Wang L, Qi B. (2015). Endogenic oxidative stress response contributes to glutathione over-accumulation in mutant *Saccharomyces cerevisiae* Y518. *Appl Microbiol Biotechnol* 99(17):7069-78

Ziegelmann B., Steidle H., Lindenmayer A and Rosenkranz, P. (2008). Sex pheromones trigger the mating behaviour of *Varroa destructor*. *Apidologie* 39, 598.

Zouari N., Ayadi I., Fakhfakh N., Rebai A, and Zouari S. (2012). Variation of chemical composition of essential oils in wild populations of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut., a North African endemic Species. *Lipids in Health and Disease*, 11, 28 – 39.

ANNEXES

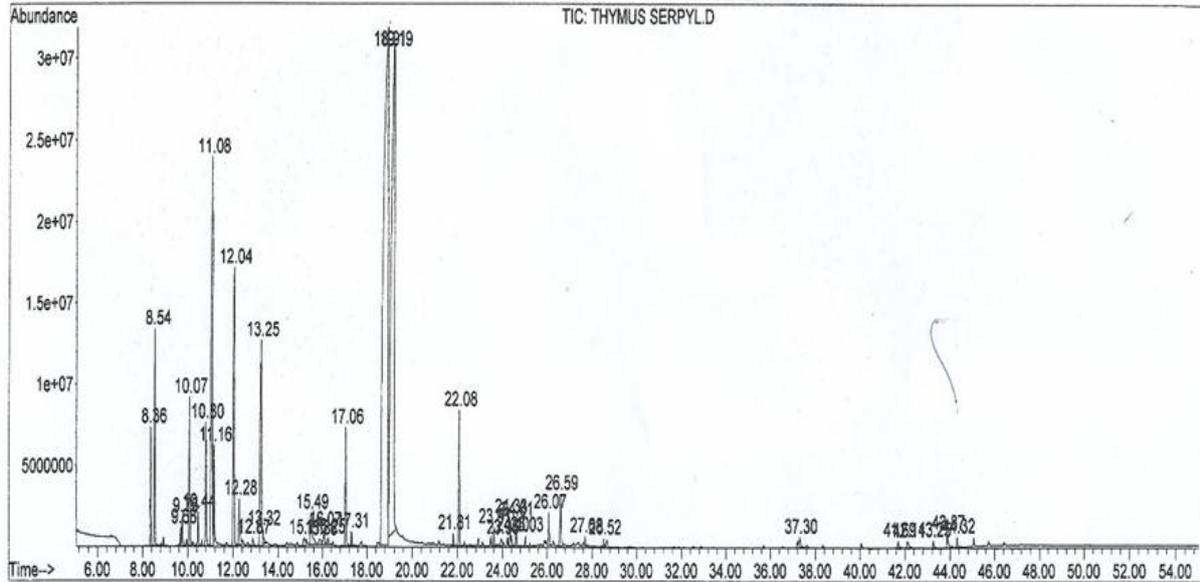
Annexe 1 : Influence de la période de récolte sur le rendement des HES huiles de *T.algeriensis*

Date de récolte	Rendement (%)
22/01/2013	1,53
04/02/2013	1,42
23/02/2013	1,06
04/03/2013	1,36
16/03/2013	0,32
04/04/2013	1,14
16/04/2013	2,37
04/05/2013	1,71
21/06/2012	3,16
21/07/2012	2,5
21/08/2012	2,32
21/09/2012	1,78
21/10/2012	1,5
24/11/2012	1,46
22/12/2012	0,88
12/01/2013	1,2

Annexe 2 : Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de *T.algeriensis*

La durée (min) La période	30	45	60	75	90	TOTAL
12/01/2013	0.35	0.25	0.13	0.08	0.04	0.85
22/01/2013	0.40	0.10	0.10	0.00	0.00	0.60
04/02/2013	0.40	0.15	0.20	0.00	0.00	0.75
23/02/2013	0.30	0.20	0.20	0.00	0.00	0.60
04/03/2013	0.45	0.15	0.10	0.00	0.00	0.70
16/03/2013	0.45	0.20	0.15	0.00	0.00	0.80
04/04/2013	0.50	0.20	0.05	0.00	0.00	0.75
16/04/2013	0.70	0.30	0.10	0.10	0.00	1.20
04/05/2013	0.90	0.30	0.10	0.00	0.00	1.30
21/06/2013	1.06	0.27	0.21	0.11	0.08	1.73
21/07/2013	1.00	0.20	0.10	0.0	0.00	1.30
21/08/2013	0.85	0.20	0.15	0.05	0.00	1.25
21/09/2013	0.60	0.30	0.10	0.00	0.00	1.00
21/10/2013	0.60	0.20	0.05	0.00	0.00	0.85
24/11/2013	0.50	0.20	0.05	0.00	0.00	0.75
22/12/2013	0.2	0.20	0.10	0.00	0.00	0.50

Annexe 3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *T. algeriensis*



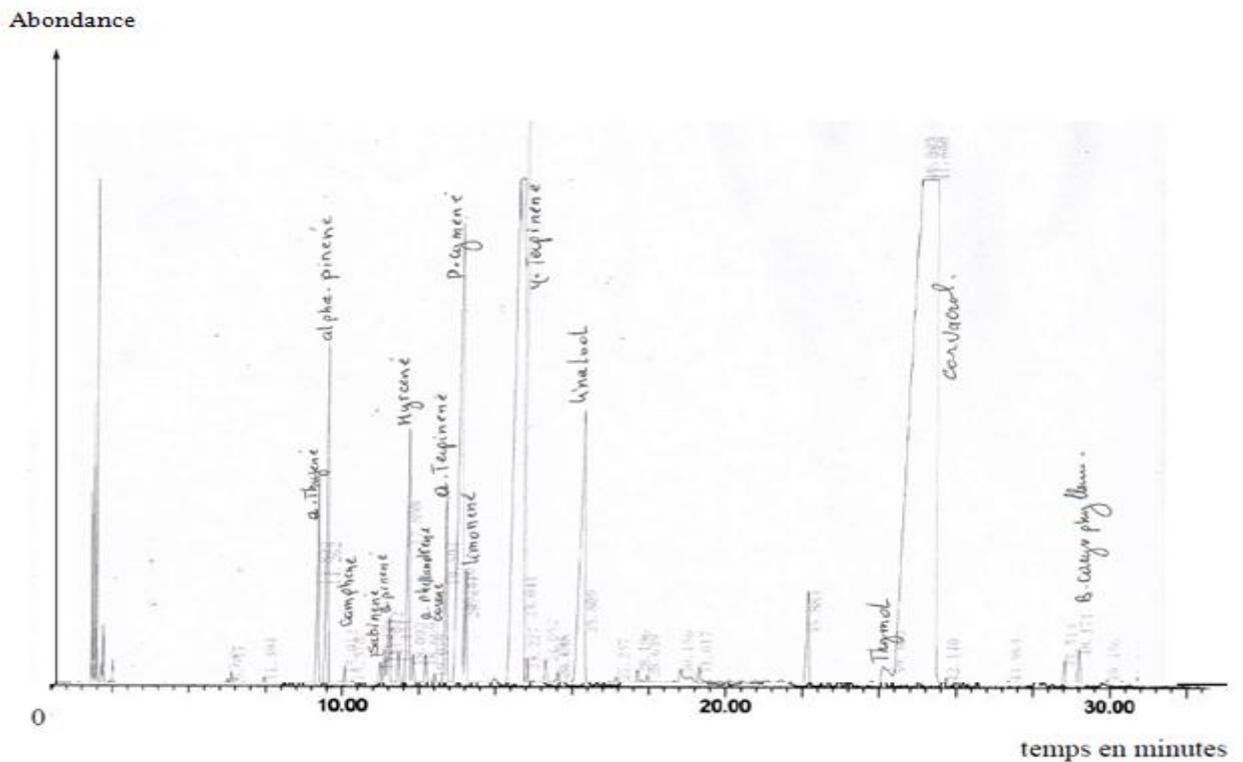
Annexe 4 : Rendement d'extraction d'huile essentielle d'*Origanum vulgare* L.

Période	Rendement ± écart-type	Période	Rendement ± écart-type
12/01/2013	0,041 ± 0,027	04/05/2013	0,04 ± 0,014
22/01/2013	0,02 ± 0	21/06/2012	0,04 ± 0
04/02/2013	0,02 ± 0	21/07/2012	0,09 ± 0,014
23/02/2013	0,025 ± 0,004	21/08/2012	0,08 ± 0,028
04/03/2013	0,025 ± 0,001	21/09/2012	0,06 ± 0,004
16/03/2013	0,021 ± 0,001	21/10/2012	0,06 ± 0
04/04/2013	0,02 ± 0	24/11/2012	0,028 ± 0,003
16/04/2013	0,04 ± 0	22/12/2012	0,031 ± 0,001

Annexe 5 : Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* L

La durée (min)	30	30	45	60	75	90	TOTAL
La période							
12/01/2013	0	0,02	0,1	0,1	0	0	0,04
22/01/2013	0	0	0,01	0,01	0	0	0,02
04/02/2013	0	0	0,01	0,01	0	0	0,02
23/02/2013	0	0	0,015	0,01	0	0	0,025
04/03/2013	0	0	0,015	0,1	0	0	0,25
16/03/2013	0	0	0,01	0,01	0	0	0,02
04/04/2013	0	0	0,02	0	0	0	0,02
16/04/2013	0	0	0,02	0,2	0	0	0,04
04/05/2013	0	0	0,025	0,015	0	0	0,04
21/06/2013	0	0	0,02	0,2	0	0	0,04
21/07/2012	0	0,2	0,050	0,02	0	0	0,09
21/08/2012	0	0,02	0,04	0,02	0	0	0,08
21/09/2012	0	0,015	0,025	0,02	0	0	0,06
21/10/2013	0	0,01	0,01	0,015	0	0	0,035
21/11/2012	0	0,01	0,01	0,01	0	0	0,03
21/12/2012	0	0,014	0,01	0,1	0	0	0,034

Annexe 6 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Origanum vulgare*



Annexe 7 . Evolution de la surface moyenne du couvain (cm²).

Lot	Ruche	Traitement					X±δ
		01	02	03	04	05	
Témoïn	R1	1369	1253,65	671,18	1080	2019	1278.57 ± 491.27
	R2	139	183,69	120,10	152,29	289,70	176.96 ± 67.15
	R3	333	334,41	113,04	242	401,50	284.79 ±111.51
	Σ	1841	1772	904,32	1474,30	2710,2	
	X±δ	613,67 ± 661,29	590,58 ± 579,16	301,44 ± 320,22	491,43 ± 511,69	903,4 ± 967,75	
Dose de 0,1%	R4	914,525	1227	956,13	264	344,61	741.25 ± 417.50
	R5	0	0	756	438,5	2394	717.7 ± 989.90
	R6	1378,69	615	667,25	0	0	532.19 ± 571.86
	Σ	2293,2	1842	2379	702,5	2738,61	
	X±δ	764,4 ± 701,50	614 ± 613,50	793 ± 147,98	234 ± 220,77	913 ± 1294,22	
Dose de 0,3%	R7	1006,37	1160	0	0	858,633	605.00 ± 562.47
	R8	656,25	933	462	184	484	543.85 ± 275.61
	R9	376,8	610	197,82	92	0	255.32 ± 242.76
	Σ	2039,42	2703	660	276	1342,6	
	X±δ	679,8 ± 315,45	901 ± 276,39	220 ± 231,79	92 ± 92	447,5 ± 430,48	
Dose de 0,5%	R10	914,525	1430	0	0	37,68	476.44 ± 661.00
	R11	0	445	664,11	308,505	0	283.52 ± 288.23
	R12	1860,45	1419	882,34	539	3403	1620.76 ±1116.92
	Σ	2775	3294	1546,45	847,5	3440,68	
	X±δ	925 ±9 30,27	1098 ± 565,54	515,5 ± 459,56	282,5 ± 270,44	1147 ± 1953,94	

Annexe 8. Evolution des surfaces moyennes des couvains (cm²) des quatre lots durant la période de traitement avec HETA

Lots	surfaces moyennes des couvains (cm ²)				
	Traitement 01	Traitement 02	Traitement 03	Traitement 04	Traitement 05
Lot1témoïn	613,5	590,6	301,44	491,5	903,4
Lot 2 traité à 0,1%	764,4	614	793	234	913
Lot 3 traité à 0,3%	679,8	901	220	92	447,5
Lot 4 traité à 0,5%	925	1098	515,5	282,5	1147

Annexe 9 : Comptage de mortalité moyenne du *V. destructor*

Lot	Ruches	Traitement					X±δ
		01	02	03	04	05	
Témoïn	R1	92	122	530	180	165	217.8 ± 177.97
	R2	3	2	12	9	19	9 ± 6.96
	R3	3	2	20	26	77	25.6 ± 30.85
	Σ	98	126	562	215	261	518
	X±δ	32,67 ± 51.31	42 ± 69.28	187.33 ± 296.78	71,67 ± 94	87 ± 73.51	172 ± 155
Dose de 0,1%	R4	177	109	487	112	64	189.8 ± 170.95
	R5	47	49	51	34	92	54.6 ± 21.94
	R6	45	22	42	7	3	23.8 ± 19.36
	Σ	269	180	586	153	159	1341
	X±δ	89,67 ± 75,64	60.00 ± 44,53	193.33 ± 254.36	51.00 ± 54,53	53.00 ± 45,51	447 ± 441,5
Dose de 0,3%	R7	160	216	685	602	68	1731 ± 278.1
	R8	80	116	518	499	392	1605 ± 209.55
	R9	58	86	193	97	53	487 ± 56.55
	Σ	293	418	1396	1198	513	3823
	X±δ	99.33 ± 53.68	139.33 ± 68.07	465.33 ± 250.19	399.33 ± 266,85	171 ± 191,54	1274 ± 684,70
Dose de 0,5%	R10	456	306	1077	286	106	2231 ± 373.85
	R11	91	52	302	163	76	684 ± 101.02
	R12	183	96	171	462	119	1031 ± 147.44
	Σ	730	454	1550	911	301	3946
	X±δ	243.33 ± 189,83	151.33 ± 135,74	516,67 ± 489.66	303,67 ± 150.28	100.33 ± 22.05	1315 ± 811,70

Annexe 10 : Evolution de la mortalité moyenne des quatre lots durant la période de traitement avec HETA.

Lot \ Traitement	Nbre de varroas morts					X±δ
	Traitement 01	Traitement 02	Traitement 03	Traitement 04	Traitement 05	
Lot1témoïn	32,5	42	187	71,5	87	420 ± 61.62
Lot 2 traité à 0,1%	89,6	60	193	54	53	450 ± 59.53
Lot 3 traité à 0,3%	99	139	465	399	171	1273±165.59
Lot 4 traité à 0,5%	243	151	516,5	303,6	100	1314.1±162.34

Annexe 11 : Consommation de sirop par le lot témoin, du thym et de l'origan (ml)

Consommation de sirop (ml) durant l'année 2012											X± σ
Date Lot	20-01	23-01	26-01	29-01	01-02	05-02	07-02	10-02	16-02	19-02	
Témoin	320,00	320,00	320,00	320,00	320,00	320,00	320,00	320,00	243,00	270,00	307,33
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 108,00	± 68,00	± 27,43
Thym	266,67	226,67	206,67	200,00	200,00	216,67	253,33	53,33	166,67	243,33	213,33
	± 92,38	± 113,72	± 120,55	± 111,36	± 115,33	± 70,95	± 50,33	± 28,87	± 45,09	± 70,95	± 65,98
origan	193,00	190,00	187,00	187,00	187,00	190,00	243,00	175,00	147,00	193,33	219,00
	± 79,17	± 76,59	± 74,39	± 71,50	± 70,56	± 66,16	± 62,55	± 83,86	± 155,35	± 92,14	± 59,90

Annexe 12 : Comparaison des résultats des surfaces moyennes du couvain des trois lots

Période Ruche	surface du couvain (cm ²)						X± σ
	19-janv	24-janv	01-févr	05-févr	11-févr	17-févr	
Témoin	612,31	785,90	810,56	683,29	428,85	301,58	603,75
	± 482,46	± 646,20	± 710,21	± 641,67	± 403,71	± 287,34	± 164,64
Thym	258,16	302,90	309,44	260,73	163,31	114,70	234,87
	± 84,13	± 107,68	± 117,69	± 98,05	± 59,58	± 39,78	± 29,81
Origan	397,98	422,84	519,15	472,98	380,56	334,30	421,30
	± 244,08	± 281,74	± 413,13	± 405,30	± 384,78	± 377,40	± 70,53

Annexe 13 : Evolution des mortalités moyennes de varroa des lots témoin, traité par le thym et l'origan

Date Lot	Mortalité de <i>V.destructor</i>											
	17-janv	20-janv	23-janv	26-janv	28-janv	01-févr	04-févr	07-févr	10-févr	13-févr	16-févr	TOTAL
Témoin	13,67	19	13,67	28,33	19,33	32,33	30	20	16,67	41,33	27,67	36,33
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	22,81	28,58	21,94	47,34	30,09	52,58	46,77	31,18	26,27	65,53	44,46	55,14
Origan	9,33	19	31,67	36,67	37,33	68,67	42,67	28,67	23,33	66	46,33	409,67
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	14,43	26,89	50,54	51,54	60,35	112,9	69,57	46,19	38,68	109,12	79,39	659,43
thym	3,33	11,33	8,67	7,33	7	9	8,67	5,67	4	6,33	4,67	7
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	3,51	12,1	8,96	5,13	6,08	7,81	6,35	4,62	3,46	5,13	4,04	7,94

