

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique



Faculté: Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

Département: Sciences Agronomiques

Spécialité: Production Animale

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master

**Action des concentrations des huiles essentielles de  
*thymus serpyllum* récolté dans la région de Djendel  
wilaya d'Ain defla sur l'activité d'*Apis mellifera* et du  
*Varroa destructor***

Présenté par :

M<sup>elle</sup> NOUN Imene  
M<sup>elle</sup> ZEGHAR Nesrine

Soutenu le : 09/07/2019 devant :

Le jury composé de :

Président	M <sup>r</sup> MOUSS Abdelhak Karim	MAA	U.D.B	Khemis Miliana
Promoteur	M <sup>r</sup> KOUACHE Ben Moussa	MAA	U.D.B	Khemis Miliana
Examinatrice	M <sup>elle</sup> AIZA Assma	MAA	U.D.B	Khemis Miliana
Examineur	M <sup>r</sup> KHELILI Ahmed	MAA	U.D.B	Khemis Miliana

Année universitaire : 2018/2019

# *Remerciements*

Avant tout, nous remercions *ALLAH* le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la patience pour faire ce travail.

Mes plus vifs remerciements à *Mr. KOUACHE Ben Moussa*. Notre promoteur Pour ses précieux conseils et ses encouragements

Je souhaite également remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et tout particulièrement *Mr MOUSS Abd elhak karim* avoir accepté d'en être le président.

Je remercie également les examinateurs de ce travail : *Mr Khelili Ahmed, Mlle*

*Aiza Assma*

Nous remercions également tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.

Pour tous la promotion de *Production Animale* 2018/2019.

*Nesrine et Imene*

# *Dédicace*

*A Mes parents*

*Mon frère, mes sœurs et mes nièces Roua. Ihabe. Nour elhouda*

*Toute ma famille*

*Mes très chères amis*

*A mon binôme Nesrine*

*Imene*

.....

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents*

*A mes frères et ma sœur et ma nièce Takwa*

*A mon marié*

*Ainsi toute ma famille et mes très chères amies*

*A mon binôme Imene*

*Nesrine*

## الملخص

إن استخدام المستخلصات النباتية العطرية كمادة قاتلة لقراد الفاروا المدمر *Varroa destructor* خيار مثير للاهتمام و فعال للتحكم في نشاطها دون أي آثار جانبية على نشاط النحل و تبيض الملكة. تهدف هذه الدراسة للحصول على مستخلصات زيت الزعتر البري *Thymus Serpyllum L* الذي تم جني الأجزاء الهوائية منه من منطقة عين الدم بلدية جندل بولاية عين الدفلى. الزيوت الأساسية المستخلصة بتقنية التقطير المائي Hydrodistillation أعطت المردود 1.46% خلال شهر أوت 2018 و 1,82% خلال شهر ماي 2019. سمح التحليل الكروماتوغرافي بتحديد 19 مركب يمثل 92,70% من الزيت. يغلب عليه مركب thymol بنسبة 73,71% , % 6,26 Terpinène , % 4,75 p. Cymène , % 0,57 Carvacrol و % 0,05 α. pinène بنسبة 0,05%. نتائج تجارب للمستخلص البيولوجي على قراد الفاروا المدمر *Varroa destructor* عن طريق الاستنشاق. أثبتت وجود علاقة عكسية متناسبة بين المدة الزمنية للمعالجة والتركيز مع نسبة الوفيات من جهة أخرى. النتائج الملحوظة العالية ظهرت مع التركيز 0.6%, 0.8% و 1% التي سجلت وفيات متتالية كالتالي: 7, 10 و 13.

**الكلمات المفتاحية:** الزعتر البري *Thymus Serpyllum L*. زيت أساسي. *Varroa destructor*,

## Abstract

The use of plant extracts as an acaricide product would be an interesting and effective option to control the activity of *Varroa destructor* L. and improve their actions without any toxic effects on the activities of the bees and the laying of the queen.

The work consists of the hydrodistillation extraction and the characterization of EO of the aerial parts *T. Serpyllum* harvest in August 2018 and May 2019 in the region of Aïn Dem, municipality of Djendel wilaya of Aïn Defla. The extracted HE yield is 1.46% during August 2018 and 1.82% during May 2019. analysis reveals the presence of 19 compounds, accounting for 92.70% of the oil. The main compounds are Thymol (73.71%), picymene (4.75%),  $\gamma$ -terpinène (6.26%) and carvacrol (0.57%).

The acaricidal tests of biological extract applied on *V. destructor* by inhalation showed that there is an inversely proportional relation between the duration on the one hand and the dose and the mortality rate on the other hand. The most striking values are observed with the 0.6%, 0.8% and 1% which recorded the highest mortalities in a reduced time respectively 7, 10 and 13.

**Key words:** *Thymus Serpyllum L*, essential oil, *Varroa destructor L*.

## Résumé

L'usage des extraits végétaux comme produit acaricide serait une option intéressante et efficace pour contrôler l'activité de *Varroa destructor* L. et améliorer leurs actions sans éventuels effets toxiques sur les activités des abeilles et la ponte de la reine.

Le travail consiste en l'extraction par hydrodistillation et la caractérisation d'Huile Essentielle des parties aériennes *T. Serpyllum* récolte au mois d'Août 2018 et Mai 2019 dans la région d'Aïn Dem, commune de Djendel wilaya d'Aïn Defla. Le rendement des Huile Essentielle extraite est de 1.46% durant Août 2018 et de 1.82% Mai 2019. L'analyse par révèle la présence de 19 composés, représentant 92.70% de l'huile. Les principaux composés sont : le Thymol (73.71%), le picymene (4.75%), le  $\gamma$ -terpinène (6.26%) et le carvacrol (0.57%).

Les tests acaricides d'extrait biologique appliqués sur *V. destructor* par inhalation ont montré qu'il y a une relation inversement proportionnelle entre la durée d'une part et la dose et le taux de mortalité d'autre part. Les valeurs les plus marquants sont observées avec la dose 0.6%, 0.8% et 1% ayant enregistré les mortalités les plus élevée dans un temps réduit respectivement 7, 10, 13.

**Mots clés :** *Thymus Serpyllum L*, huile essentielle, *Varroa destructor*.

## Liste des abréviations

<b>AFNOR</b>	Association Française de la Normalisation
<b>C°</b>	Degré Celsius
<b>CPG</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse
<b>EMEA</b>	Européen Médecines Agency. London
<b>Fig</b>	Figure
<b>HD</b>	Hydrodistillation
<b>HE</b>	huile essentielle
<b>HR</b>	Hygrométrie relative
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>OMSA</b>	Organisation Mondiale de la Santé Animale
<b>P</b>	Poids
<b>pH</b>	potentiel d'hydrogène
<b>R<sup>dt</sup></b>	Rendement
<b>SM</b>	Spectrométrie de Masse
<b>T</b>	Thymus
<b>TH</b>	Taux d'humidité
<b><math>\alpha</math></b>	Alpha
<b><math>\beta</math></b>	Beta
<b><math>\gamma</math></b>	Gamma
<b><i>P</i></b>	Para
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	microgramme.

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	<i>Thymus serpyllum</i> L.	<b>05</b>
<b>Figure 2</b>	Répartition géographique de thym dans le monde	<b>06</b>
<b>Figure 3</b>	Carte de répartition du Thym à travers la wilaya d'Ain Defla	<b>07</b>
<b>Figure 4</b>	Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles	<b>08</b>
<b>Figure 5</b>	Glande sécrétrice de l'épiderme d'une feuille	<b>10</b>
<b>Figure 6</b>	Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d' <i>O. heracleoticum</i> , montrant l'espace sub-cuticulaire rempli d'HE (x 420)	<b>10</b>
<b>Figure 7</b>	Le cycle de vie du varroa comprend une métamorphose	<b>16</b>
<b>Figure 8</b>	Schéma de la face ventrale d'une femelle de <i>Varroa destructor</i>	<b>17</b>
<b>Figure 9</b>	Photographie au microscope électronique à balayage d'une face dorsale d'une femelle de <i>Varroa destructor</i>	<b>17</b>
<b>Figure 10</b>	Photographie au microscope électronique à balayage d'une face ventrale d'une femelle de <i>Varroa destructor</i>	<b>17</b>
<b>Figure 11</b>	cycle de développement du <i>V. destructor</i>	<b>18</b>
<b>Figure 12</b>	Morphologie externe d'un mâle de <i>Varroa destructor</i>	<b>19</b>
<b>Figure 13</b>	site du rucher de l'université Djilali Bounaama	<b>22</b>
<b>Figure 14</b>	<i>Apis Mellifera</i>	<b>23</b>
<b>Figure 15</b>	<i>Varroa destructor</i> .	<b>23</b>
<b>Figure 16</b>	localisation de lieu de récolte sur la carte de Djendel (subdivision de l'agriculture commune de Djendel).	<b>24</b>
<b>Figure 17</b>	Hydro-distillateur de type Clevenger	<b>26</b>
<b>Figure 18</b>	chromatographie en phase gazeuse couplée à l'enregistreur.	<b>27</b>
<b>Figure 19</b>	Application de traitement par inhalation	<b>28</b>
<b>Figure 20</b>	Teneur de MS et de l'humidité de <i>T. serpyllum</i> (1er et 2ème récolte).	<b>29</b>
<b>Figure 21</b>	HE de <i>T. serpyllum</i> L.	<b>30</b>
<b>Figure 22</b>	Représentation de la cinétique d'extraction d'HE de <i>T. serpyllum</i> L	<b>30</b>
<b>Figure 23</b>	Présentation graphique de la variation de rendement d'HE de <i>T. Serpyllum</i> L	<b>32</b>
<b>Figure 24</b>	Traitement acaricide à la dose 0.2 %	<b>34</b>

<b>Figure 25</b>	Traitement acaricide à la dose 0.4 %	<b>35</b>
<b>Figure 26</b>	Traitement acaricide à la dose 0.6 %	<b>36</b>
<b>Figure 27</b>	Traitement acaricide à la dose 0.8 %	<b>36</b>
<b>Figure 28</b>	Traitement acaricide à la dose 1 %	<b>37</b>
<b>Figure 29</b>	Traitement acaricide à l’Ethanol	<b>38</b>
<b>Figure 30</b>	Présentation graphique de taux de mortalité de Varroa destructor	<b>39</b>

### **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1</b>	Procédé de dilution d'HE	<b>28</b>
<b>Tableau 2</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'HEs de T. Serpyllum L	<b>30</b>
<b>Tableau 3</b>	la quantité d'HE extraite chaque 30minute	<b>31</b>
<b>Tableau 4</b>	la quantité d'HE extraie chaque 30 min.	<b>32</b>
<b>Tableau 5</b>	Composition chimique d'HE de T. Serpyllum L après 30- 60- 90	<b>33</b>
<b>Tableau 6</b>	Le nombre des mortalités des abeilles chaque 30min.	<b>34</b>
<b>Tableau 7</b>	Taux de mortatilité de Varroa destructor	<b>38</b>

## Table des matières

<b>Remerciement</b>	I
<b>Dédicaces</b>	II
<b>Abréviations</b>	III
<b>Liste des figures</b>	IV
<b>Liste des tableaux</b>	V
<b>Introduction</b>	01

## Partie Bibliographique

### Chapitre I

#### Les Lamiacées

1. Les Lamiacées généralités La matière végétal genre <i>Thymus</i>	04
1.1- Description botanique	04
1.1.1- Classification botanique de <i>Thymus serpyllum</i> L.	05
1.1.2- Répartition spatiale de <i>Thymus Serpyllum</i> L.	05
1.1.2.1- Dans le monde	05
1.1.2.2- En Algérie	06
2- les huiles essentielles	07
2.1- Définition	07
2.2- Composition chimique	07
2.3- Propriétés thérapeutiques	08
2.4- lieux de formation et d'accumulation	08
2.5- caractéristiques et propriétés physicochimiques	09
3-Facteurs influençant le rendement et la composition chimiques des huiles essentielles	09
3.1-Facteurs liés à la plante	09
3.2-Facteurs liés aux conditions environnementales	10
3.3- Facteurs liés aux méthodes d'extraction, de stockage et conservation	11
4- les activités des huiles essentielles	12
4.1- Activités antimicrobienne	12
4.2-Activités antifongique	12
4.3- Activités antioxydant	12
4.4- Activités insecticide	13
4.5- Activités larvicide	13

4.6- Activités acaricides	13
---------------------------	----

## **Chapitre II**

### ***Varroa destructor***

1- Taxonomie de <i>V. destructor</i>	15
2- Morphologie et anatomie du <i>V. destructor</i>	15
2.1- Morphologie et cycle évolutif de la femelle adulte <i>V. destructor</i>	15
2.2- Morphologie et cycle évolutif du mâle adulte du <i>V. destructor</i>	18
3- Moyens de lutte contre <i>V. destructor</i>	
3.1- Les acaricides chimiques	20
3.2- Les méthodes biotechniques et mécaniques	19
3.3- Acaricides biologiques (Bactéries, Virus, Champignons et composés naturels)	20

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre I**

##### **matériels et méthodes**

1-Objectif	22
2-Présentation du site d'expérimentation	22
3- Matériels et méthodes	23
3.1- Matériels	23
3.1.1- Matériel biologique	23
3.1.2- Matériel végétale	24
3.1.3-Matériels apicole	25
4-Méthodes	25
4.1-Détermination de la matière sèche	25
4.2-Extraction de l'huile essentielle	25
4.3- Cinétique d'extraction	26
4.4- Calcul du rendement	26
5-Analyse des huiles essentielles par la chromatographique en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	27
6-activité acaricide des huiles essentielles de <i>Thymus serpyllum</i> L	27
6.1-Traitement du varroa par inhalation	28
6.2-Les variables mesurées	28

## Chapitre II

### Résultats et discussion

Détermination du taux de matière sèche	29
2.1- Caractéristiques organoleptiques	29
2.2- Cinétiques d'extraction	30
2.3- Rendement d'extraction	31
2.4- Caractérisation des HEs de <i>T. serpyllum L.</i> par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ SM)	33
2.5- Activité acaricide des HEs du Thym	34
Conclusion générale	40
Références bibliographiques	41

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribué aux métabolites secondaire qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant un très large éventail d'activités biologiques (Zeghad., 2009).

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition que de leur rendement .Cette variabilité est fondamentale car les activités qui en découlent peuvent être très différentes (Benini., 2007) . Elle peut s'expliquer, en effet par des facteurs d'origine intrinsèques, spécifiques du patrimoine génétique de la plante ou extrinsèques, liées à la condition de croissance et développement de la plante (Bouguerra., 2012).

Dans l'environnement, l'abeille est soumise à divers facteurs, agissant seuls ou en synergie et contribuant à l'affaiblissement et à la mortalité des colonies d'abeilles (Meixner., 2010) tels que les prédateurs, les bactéries, les champignons, les parasites ( James., 2012), parmi ces derniers le *Varroa destructor* agent causale de la varroase, maladie parasitaire grave et contagieuse de l'abeille et de son couvain (Anderson et Trueman., 2000, Fernandez., 2002 et Martin et *al.*, 2012).

De nombreux travaux de recherches sont focalisés sur les aspects de la lutte par des moyens chimiques contre le *Varroa*. Or, ces derniers ne se sont avérés efficaces que sur les varroas adultes hors couvain. De plus, les résidus de ces produits chimiques ont des effets néfastes sur l'environnement (Lodesani., 2004) et nous les retrouvons même en quantités potentiellement dangereuses dans les produits de la ruche d'après Simoneau, (2004) .Les chercheurs se sont retournés vers des solutions biologiques. A cet effet, Lang et Buchbauer, (2012) notent que les pays du bassin méditerranéen, offre une gamme de végétation très riche et diverse ayant une grande affinité avec les abeilles.

C'est dans ce contexte que s'insère le présent travail qui vise à étudier l'effet des huiles essentielles extraites l'espèce *Thymus serpyllum* comme bio-acaricide, récolté de la commune de Djendel, wilaya de Ain Defla

Nous avons subdivisé notre travail en deux parties:

La partie bibliographique : consiste à une synthèse bibliographique sur le thym, les huiles essentielles, et les facteurs qui influencent leur rendement et leur composition, et la maladie de varroa.

La partie expérimentale : consacrée à la présentation du matériel et méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus avec discussions.

# Partie Bibliographique

## **Chapitre I**

### **Les lamiacées**

#### **1- Généralité :**

La famille des lamiacées (Labiées) du latin (Labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique, à deux lèvres (Naghibi et al., 2005). Cette famille comprend environ 6700 espèces réparties en 240 genres (Miller et al., 2006). Les genres les plus cités dans la littérature sont : *Salvia officinalis*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Riesmarinum basilicum*, *Thymus serpyllum* (Lee et al., 2005).

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naghibi et al., 2005). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en 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, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Ghermanet al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006 ; Hilan et al., 2006). 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 domestication et culture de Labiatae.

Les espèces du genre *Thymus* sont des plantes basses sous ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Elles 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'HE majoritairement composée de mono terpènes. 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 (Soto-Mendivil et al., 2006).

#### **2.1-Description botanique :**

Le thym selon Perrotet et al (2003), est une plante basse sous, ligneuse, pouvant atteindre 40cm de hauteur, il possède de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur vert foncée,

et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono terpènes oxygène.

Le serpolet est un sous-arbrisseau d'environ 10 cm de hauteur, rampant, il peut s'étendre sur une largeur de 50 cm. Plante tapissant, elle possède de très petites feuilles opposées ovales ou lancéolées vertes aux reflets pourprés, persistantes. Ses hampes florales courtes et dressées offrent des petites fleurs mauves groupées en capitules terminaux dès le mois de juin. Il aime les sols maigres, secs et calcaires. (Haddouchi et *al.*, 2009).

### 2.1.1-Classification botanique *thymus serpyllum* L. :

Le serpolet (*Thymus serpyllum*) ou thym serpolet est un sous-arbrisseau de la famille des Lamiacées appartenant au genre *Thymus*. (Remal et *al.*, 2017).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Thymus</i>
Nom binominal	<i>Thymus serpyllum</i> L.



**Figure 1:** *Thymus serpyllum* L.

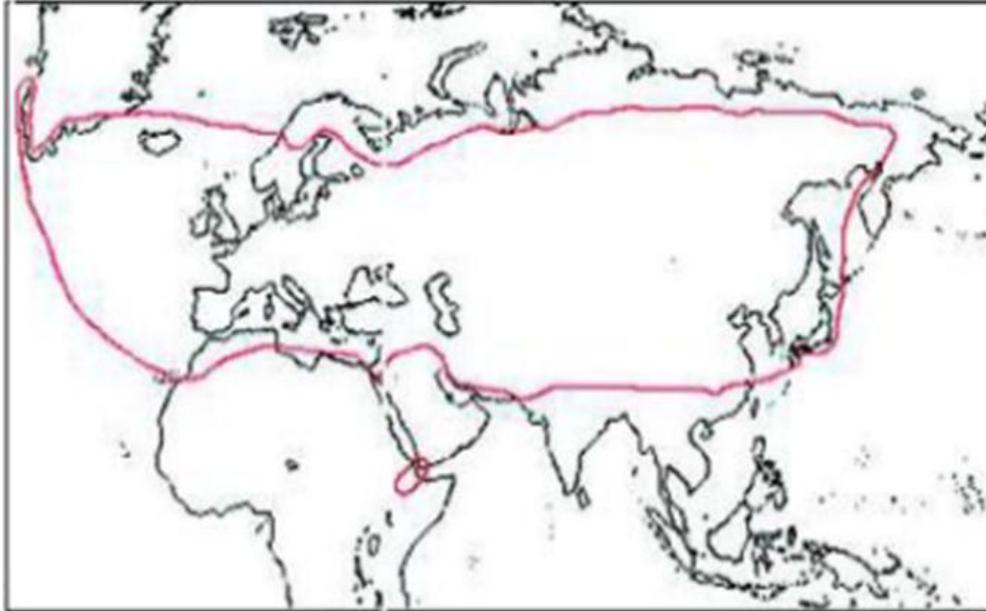
### 2.1.2-Répartition spatiale de Thym :

#### 2.1.2.1-Dans le monde :

Le genre *thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille de lamiacées (Naghbi et *al.*, 2005).

Il existe près des 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la Méditerranée. C'est une plante très répandue dans le Nord-Ouest Africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'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. (Dob et *al.*, 2006).

Environ 110 espèces différentes du genre thymus se concentrent dans le bassin méditerranéen. Est pour cela que l'on peut considérer la méditerranéenne comme étant le berceau de ce genre. (Nickavar et *al.*, 2005).



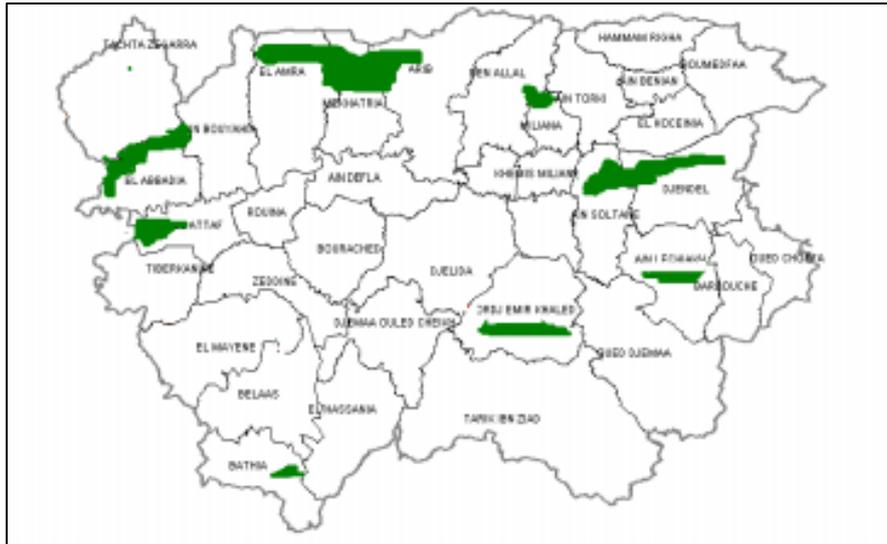
**Figure 2 :** Répartition géographique de thym dans le monde (Stahl-biskup, 2002).

#### **2.1.2.2-En Algérie :**

L'Algérie est connue par sa richesse en plante médicinale eu égard de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le thym comprend plusieurs espèces réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides. (Saidj., 2006).

Environ 6700 espèces de genre *Thymus* à travers le monde dont 11 sont localisées en Algérie. (Kabouche et *al.*, 2005).

Au niveau de Ain Defla, la répartition de *Thymus* est aléatoire, cela est due principalement aux facteurs pédoclimatiques (les terrains sont tendres, à prédominance marneuse dans le Dahra Zaccar, schisto-marneu à l'Ouarsenis avec altitude (Dahra 700 m, Zaccar 1576m, Ouarsenis 1700m). (Kouache et al ; 2012).



**Figure 3 :** Carte de répartition du Thym à travers la wilaya d'Ain Defla  
(Kouache et *al*, 2012)

## 2- Les huiles essentielles :

### 2.1- Définition :

On appelle huiles essentielles (ou parfois essences végétales) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, 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. 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 (Laurent et Delene., 2008).

### 2.2- Composition chimique :

Selon Pibiri (2006), le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable. La plupart sont poly-moléculaires, à côté des composés majoritaires, on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. Les composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » ( $C_5H_8$ ), soit deux unités pour les monoterpènes ( $C_{10}H_{16}$ ) et trois pour les sesquiterpènes ( $C_{15}H_{24}$ ). Exceptionnellement, quelques diterpènes ( $C_{20}H_{32}$ ) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles (Vila et *al*, 2002). Plusieurs milliers des composés appartenant à la famille des terpènes ont, à ce jour, été identifiés dans les huiles essentielles (Modzelewska et *al.*, 2005). La réactivité des cations intermédiaires obtenus lors

du processus biosynthétique des mono- et sesquiterpènes explique l'existence d'un grand nombre de molécules dérivées fonctionnalisées telles que des alcools (géraniol,  $\alpha$ -bisabolol), des cétones (menthone,  $\beta$ -vétivone), des aldéhydes (citronellal, sinensal), des esters (acétate d' $\alpha$ -terpinyle, acétate de cédryle), des phénols (thymol), etc.

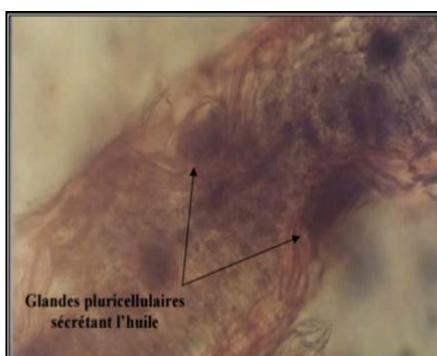
### 2.3 - Propriétés thérapeutiques :

L'efficacité thérapeutique des HE est liée à leur utilisation rigoureuse et contrôlée, fondée sur la bonne connaissance de leurs propriétés biochimiques guidant leurs indications cliniques. Les HEs présentent un éventail large de vertus thérapeutiques, pouvant être utilisées comme compléments thérapeutiques sous diverses formes, (Pavan., 2018).

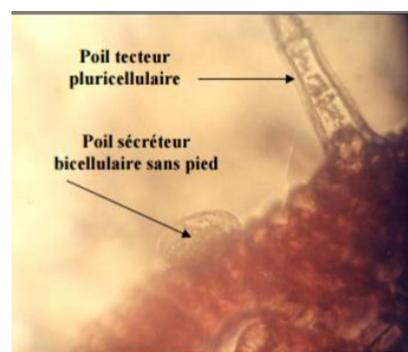
D'autres applications médicales ont été étudiées. Les travaux de (Jafri et *al.*, 2004) ont prouvé la capacité de l'HE de cardamome à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Il a également été démontré que les HEs facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'œstradiol (Monti et *al.*, 2002). Des travaux ont analysé les effets des HEs sur le comportement (Umezu et *al.*, 2006) comme la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction à certaines drogues telles que la nicotine (Zhao et *al.*, 2005).

### 2.4- Lieux de formation et d'accumulation :

Les HEs sont localisés le plus souvent dans des organes sécréteurs. Leurs stockages se font dans les organes végétaux : fleurs, feuilles, fruits, tiges, bois, écorces, parties souterraines à proximité de la surface. Bien que toutes les parties d'une plante puissent contenir des essences, leurs compositions chimiques varient d'un organe à un autre, mais la plus importante concentration se trouve au niveau des fleurs et des feuilles (Benbouali., 2006).



coupe transversale d'une feuille de thym observée au microscope photonique (G X 800).



coupe transversale d'une tige de thym observée au microscope photonique (G X 600)

**Figure 4 :** Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles (Saidj, 2007).

## **2.5- Caractéristiques et propriétés physicochimiques :**

On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de saffras. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation, ce sont des liquides à la température ordinaire (Rhayou., 2002).

## **3- Facteurs influençant le rendement et la composition chimiques des huiles essentielles :**

Ces facteurs peuvent être intrinsèques, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèques, liées aux conditions de croissances et de développement de la plante.

### **3.1- Facteurs liés à la plante :**

Le stade végétatif a une influence sur la composition quantitative et qualitative des HES. Alors que 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. La plante de deux ans donne un rendement de 0,5% alors que celle de 5 ans donne un rendement de 0,15%.

Les HES sont élaborées et stockées dans les tissus sécréteurs de la plante sous formes des petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles. (Gonzalez et *al.*, 2007). Selon Faleiro et *al.*, 2003 et Degryse et *al.*, 2008, toutes les parties de la plante, de mêmes espèces, peuvent renfermer une HE et sa composition varie selon sa localisation. Elles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante.

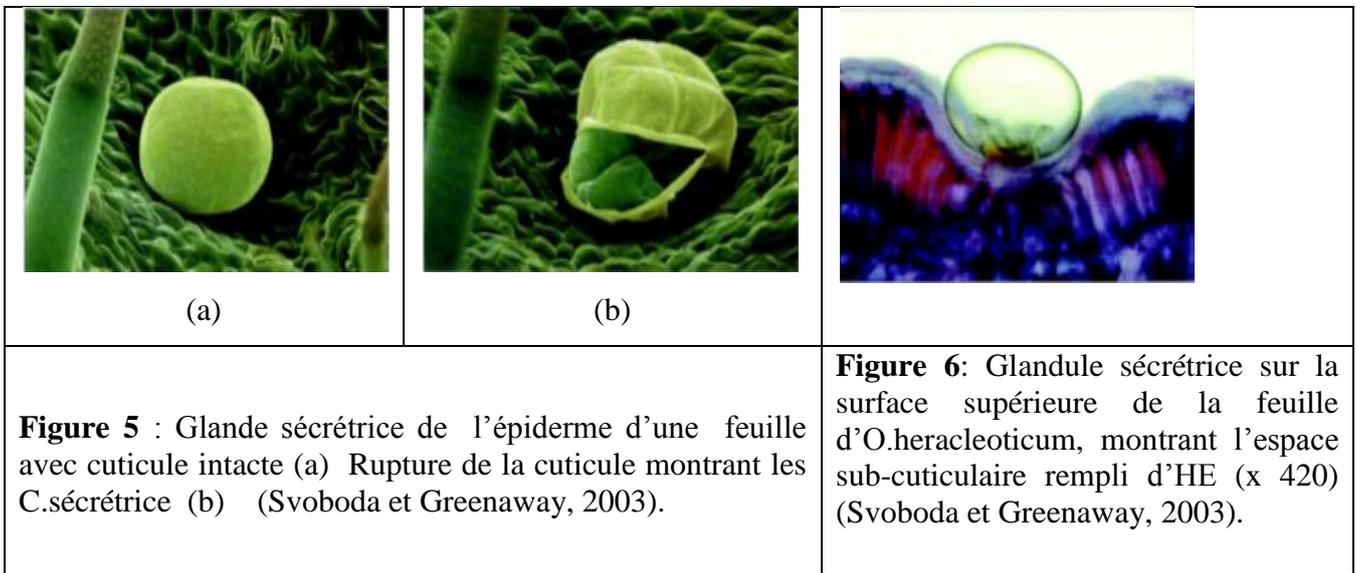
Le Chémotype une forme de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifique de la plante, à savoir, le climat, le sol et la période de récolte qui peuvent influencer sa composition. On parle alors d'une HE, chémotype. (Loziene et Venskutonis., 2006).

Le Chémotype 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, bien que leur

morphologie ainsi que leur génétique ne soient pas substantiellement transformées, seul leur phénotype chimique est mouvant (Bonnetalves., 2002).

Selon Hettiarachichi (2008), l'état du matériel végétal influe sur la composition et le rendement des HEs. L'état sauvage ou les conditions de culture, ainsi que les facteurs environnementaux jouent un rôle non négligeable, à la fois sur les aspects qualitatifs et quantitatifs des constituants élaborés par la plante.

La durée et le mode de stockage des matières végétales peuvent également influencer la composition et le rendement des HEs (Besombes., 2008). Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, la distillation immédiate ou un séchage soigneux étant les deux procédés utilisés.



### 3.2- Facteurs liés aux conditions environnementales :

Les conditions environnementales influencent la composition et le rendement des HEs. Sous l'effet des conditions pédoclimatiques pour la même espèce, même génotype et le même stade de développement, (Bakkali et al., 2008). Ainsi que l'origine géographique de la matière première (Mohammedi ., 2011).

Grecheet al (2008) montrent l'effet du séchage sur la variation des rendements des HEs de l'espèce *Tanacetum annuum* L. de 1,38 - 0,8ml et 1ml /100g MS respectivement 1<sup>er</sup> 2<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jours de séchage à l'air libre.

Ces résultats démontrent que le séchage à l'ombre de la partie aérienne de *Tanacetum annuum* L. n'affecte pas d'une manière significative la composition chimique de l'HE qui reste dans l'ensemble relativement constante.

La photopériode intervient à 2 niveaux : celui de l'induction florale et celui de la durée journalière de la photosynthèse (thermo photopériode). Une étude sud-africaine (Mosta, 2006) a révélé que les récoltes de géranium espacées de 8-12 semaines en période ensoleillée donnent de meilleurs résultats quantitatifs et qualitatifs.

Yayi-Ladekan *et al* (2011), a étudié la variation diurne de la composition chimique et son influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'HE d'*Ocimum canum* Sims, Le rendement de l'huile varient selon le temps et l'ensoleillement. Abondant le matin vers 7h (1,71%), le rendement décroît progressivement avec l'augmentation des rayons solaires, jusqu'à son minimum vers 13 h (1,35%) quand le soleil est au zénith, avant de croître à nouveau à sa valeur la plus élevée (1,78%) vers 19 h, au coucher du soleil.

La fréquence et l'intensité des précipitations peuvent intervenir sur la sécrétion des HEs, les plantes extériorisent leur potentiel sécréteur dans les conditions de faibles précipitations.

Des études faites par Muhammad *et al* (2010) sur la variation de rendement et la composition chimique d'HE d'*Eucalyptus cacaldulensis* dans les sols salés et non salés, ils ont trouvé que le rendement est de 0,98 et 0,96% de sol salé et non salé respectivement et le major constituant 1,8 -cineole varie de 34,42 à 40% respectivement pour les sols salés et non salés, cette variation serait due au stress lié à la salinité du sol.

### **3.3- Facteurs liés aux méthodes d'extraction :**

Gomes *et al* (2004) avaient montré l'influence de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité de l'HE. La labilité des constituants des HEs explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal (Lucchesi., 2005). L'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations (Lucchesi., 2005).

La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait. 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).

## **4- Activités des huiles essentielles**

### **4.1- Activités antimicrobienne :**

Les vertus antimicrobienne des HE sont connue et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se base sur des pratiques traditionnelles (Hala et *al.*, 2000) et des applications sans bases scientifiques précises. On note l'étude faite par Chamberland en 1887 de l'activité antimicrobienne des essences de cannelle, d'origan et de girofle (Bouhadid., 2006). et qu'en 1991 Gatte fosse a montré que le bacille de Koch était détruit en 5 minutes par une émulsion à 1% d'huile de pin.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des HEs des plantes aromatiques (Cox et *al.*, 2000 ; Ettatyebi et *al.*, 2000)

### **4.2- Activités antifongique**

Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les HE on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones ses sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le milieu (Benayad., 2008).

### **4.3- Activités antioxydant :**

L'activité antioxydant des huiles essentielles est exploitée dans la lutte contre le stress oxydatif qui est défini comme un déséquilibre entre la production excessive de molécules oxydantes et/ou une diminution du taux d'antioxydants dans l'organisme (Bessah., 2015). Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires. Les huiles essentielles bloquent la formation et/ou la sécrétion des médiateurs de l'inflammation comme l'histamine, les cytokines pro-inflammatoires, les prostaglandines, l'oxyde d'azote et les radicaux libres produits par les neutrophiles (Soza., 2003).

### **4.4- Activités insecticide :**

L'HEs présente des activités insecticides. Elles sont aussi utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs. En effet, ces bio-pesticides présentent un réel avantage par rapport aux produits phytosanitaires qui comportent des risques pour la santé humaine et pour l'environnement. Les bio-pesticides à partir des huiles essentielles sont caractérisés par leur

faible rémanence, leur faible toxicité pour l'homme et par leur mode d'action sur les ravageurs. L'action des huiles essentielles sur les insectes et acariens affecte la croissance, la mue, la fécondité et le développement. (Bessah., 2015).

#### **4.5- Activités larvicide :**

Les femelles de nombreuses espèces de moustiques se nourrissent de sang de vertébrés vivants. On se nourrit de sang, certains d'entre eux 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 dans le 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).

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, y compris les huiles essentielles, sont prometteurs car ils sont efficaces, sans effet négatif sur l'environnement et facilement biodégradable et souvent peu onéreuses. De nombreuses huiles essentielles peuvent exercer l'activité toxique contre les espèces de moustiques (Sayah et al., 2014),( Elakhel et al., 2015) .

#### **4.6- Activités acaricides:**

L'acarien *Varroa destructor* est un parasite de l'abeille mellifère, *Apis mellifera*, qui provoque toujours de nombreuses pertes de colonies à travers le monde. (Pierre., 2011). Maladie réglementée, elle est classée, et se trouve également sur la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA ., 2013).

Le thymol est toxique pour varroa à tous les stades de son développement : les œufs, les larves les nymphes et les adultes (Doemon et *al*, 2009). Des études réalisées par (Lamara., 2012) (Boutoba., 2013) repose sur l'utilisation d'un traitement biologique à base d'huiles essentielles de thymus contre la varroa destructeur parasite d' (*Apis Mellifica*) avec des dosage variable et en fonction de mode d'utilisation montrent que la dose de 3% entraîne un taux de mortalité maximal de 28%, par rapport aux autres doses (1% ,3% ,5%) pendant la période hivernale. L'utilisation des plantes médicinales locales est la méthode la plus utilisée chez les petits éleveurs tandis que l'application courante des acaricides de synthèse est la méthode la plus utilisée dans les systèmes de production intensifs pour combattre les ectoparasites (Lhoste et *al.*, 2001) Cependant, les conséquences sur l'homme et son environnement, la présence des souches d'acariens aux acaricides ainsi que la rareté et le coût élevé des produits de bonne qualité sur les marchés locaux posent le problème de la recherche de solutions alternatives (Watson., 1998).

## Chapitre II

### *Varroa destructor*

#### 1- Généralité :

L'acarien *Varroa destructor* (Anderson et Trueman., 2000) est un acarien dont la cladogenèse en débutant avec les Euarthropodes est : Euarthropodes, Chélicérates, Arachnides, Acariens, Mesostigmata, Varroidae, *Varroa destructor* (Lecointre et *al.*, 2008).

Les Varroidae regroupent des ectoparasites obligatoires qui se nourrissent exclusivement de l'hémolymphe des abeilles du genre *Apis*. Les deux espèces les plus connues sont : *Varroa jacobsoni*, parasite d'*Apis cerana* et *Varroa destructor*, parasite d'*Apis Mellifera*. (Pierre., 2011).

#### 1.1- Taxonomie de *V. destructor* :

Selon Anderson et Truman ., 2000 le *V. destructor* est un acarien ectoparasite de l'abeille à miel de la famille de Varroidae et classé selon la classification suivant :

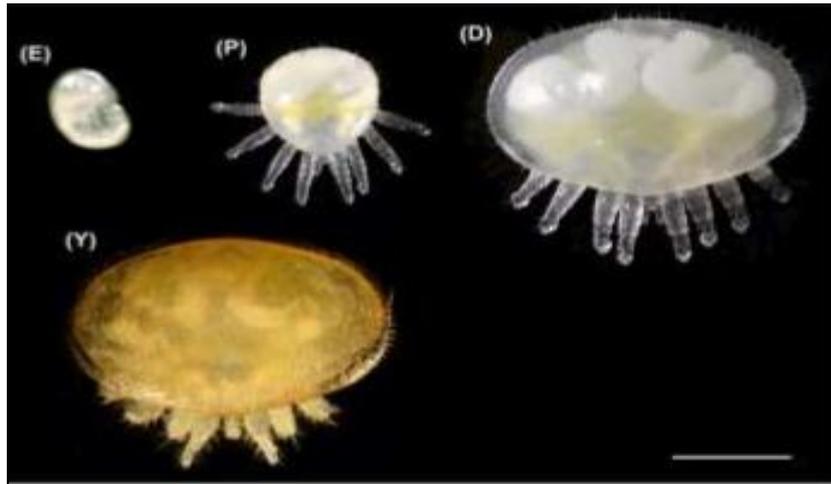
<b>Règne :</b>	Animalia
<b>Embranchement :</b>	Arthropoda
<b>Sous-embranchement :</b>	Chelicerata
<b>Classe :</b>	Arachnida
<b>Sous-classe :</b>	Acari
<b>Super ordre :</b>	Parasitiformes (ou Anactinotrichida)
<b>Ordre :</b>	Mesostigmata (ou Gamasida)
<b>Sous-ordre :</b>	Monogynaspida
<b>Cohorte :</b>	Gamasina
<b>Sous-cohorte :</b>	Dermanyssiae
<b>Super-famille :</b>	Dermanyssoidea
<b>Famille :</b>	Varroidae
<b>Genre :</b>	<i>Varroa</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Destructor</i>

## 2-Morphologie et anatomie du *V. destructor* :

### 2.1-Morphologie et cycle évolutif de la femelle :

Au cours de son cycle évolutif, plusieurs stades se succèdent :

- Les stades immatures : Œufs, larves, nymphes.
- Le stade adulte : caractérisé par un dimorphisme sexuel



**Figure 7:** Le cycle de vie du varroa comprend une métamorphose (Mondet et *al.*, 2016)

Il y a deux phases distinctes dans le cycle vital des femelles *V. destructor* : une phase phorétique sur les abeilles et une phase reproductive dans le couvain operculé des ouvrières et des bourdons .

La femelle varroa passe d'un mode de vie phorétique associé aux abeilles adultes vers un mode de vie reproducteur enfermé avec une larve d'abeille (ouvrière ou bourdon).

La phase phorétique sur l'abeille adulte peut durer quelques jours en période de développement des abeilles, à plusieurs mois en hiver.

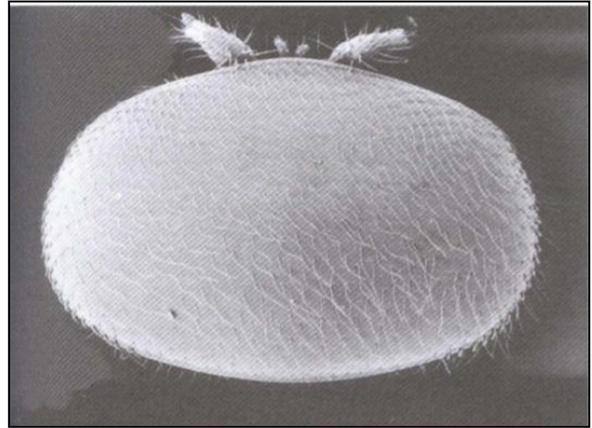
En présence du couvain, la femelle varroa quitte l'abeille adulte et pénètre dans une cellule contenant une larve de 5 à 6 jours Selon (Pierre., 2011), l'infestation d'une cellule de couvain par une femelle fondatrice se fait juste avant l'operculation de la cellule. Environ trois jours après l'operculation, un premier œuf est pondu qui donnera un mâle. Les autres œufs (5 œuf au total) seront pondus à des intervalles d'environ 30 heures et donneront des jeunes femelles. Les premières jeunes femelles seront fécondées par le mâle. A l'émergence de l'abeille ouvrière il y a en moyenne 2 femelles varroas fécondées avec la femelle fondatrice.

- **Face dorsale**

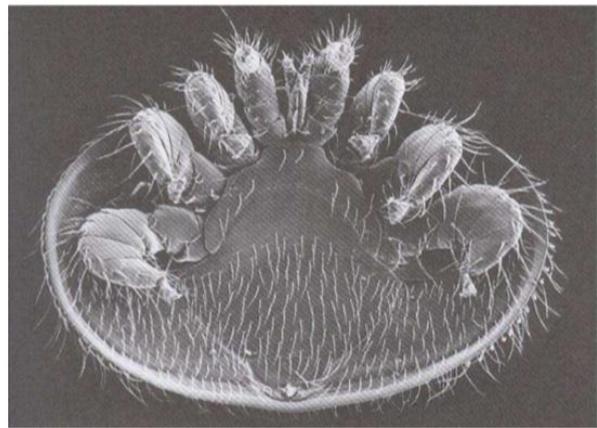
Striée transversalement et couverte de soies différenciées selon les régions, la face dorsale est composée d'un unique sclérite formant un large bouclier bombé. Les soies des bords marginaux sont épaisses, longues et spiniformes tandis que celles du centre sont plus minces et portent de courtes barbules (Fernandez et Coineau, 2002).

- **Face ventrale**

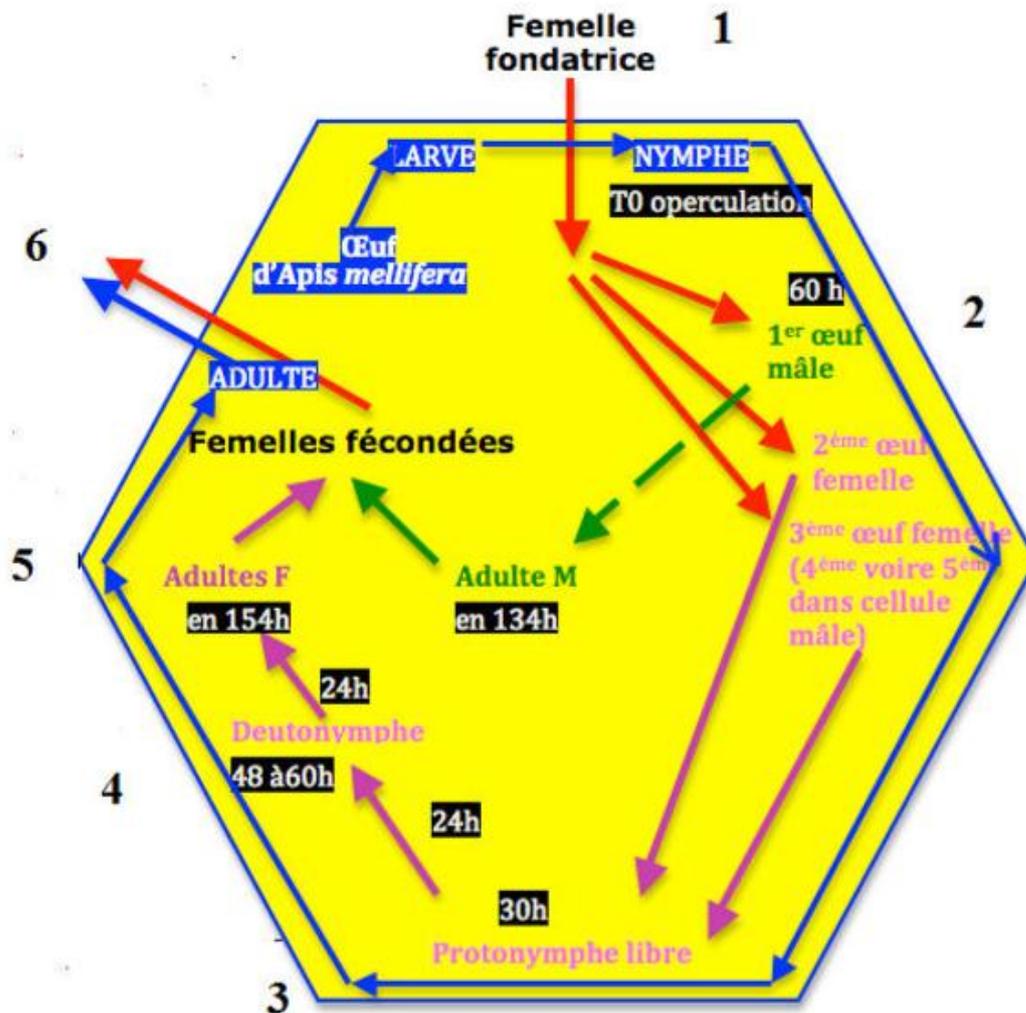
La complexité de la morphologie de *Varroa* s'observe quand on retourne le parasite. Comme tout acarien, il est divisé en deux parties : l'idiosoma représente la quasi-totalité du corps et le gnathosome correspond à l'appareil buccal (Treilles, 2002).



**Figure 9** : Photographie au microscope électronique à balayage d'une face dorsale d'une femelle de *Varroa destructor* (Fernandez et Coineau., 2002).



**Figure 10** : Photographie au microscope électronique à balayage d'une face ventrale d'une femelle de *Varroa destructor* (Fernandez et Coineau., 2002).

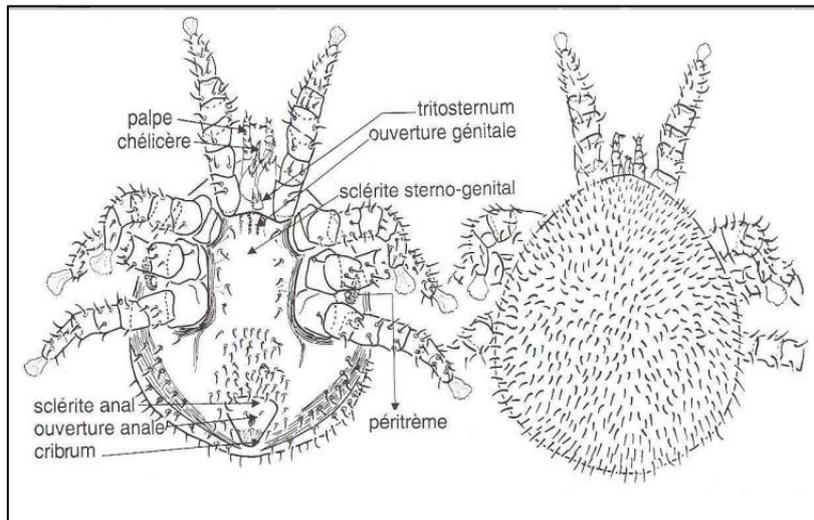


**Figure 11** : cycle de développement du *V. destructor* (F : femelle, M : Mâle, en rouge et violet, cycle de la femelle du *V. destructor*, en vert, cycle du mâle et en bleu, cycle de l'abeille) (Naquet., 2008).

## 2.2- Morphologie et cycle évolutif du mâle adulte du *V. destructor* :

Le mâle se trouve uniquement dans les cellules de couvain operculé. Il meurt rapidement après l'émergence de la jeune abeille parasitée (Vidal-Naquet., 2015). Il est plus petit que les femelles (0,75 à 0,70mm) et parfois difficiles à différencier des femelles immatures. Il possède une cuticule peu sclérotisée (excepté au niveau des pattes) de couleur blanche à jaunâtre (Wendling., 2012). De la même façon que les formes immatures, le mâle est incapable de nourrir de lui-même et est entièrement dépendant de la fondatrice. Il est également très sensible à la déshydratation.

Le mâle sexuellement mature avant la femelle, atteint l'arrivée de sa première sœur sur le site d'accumulation fécale, lieu d'accouplement. Plusieurs accouplements se succèdent jusqu'à l'arrivée d'une autre sœur adulte sur le site, avant l'émergence. A l'issue de cette dernière, les femelles immatures et le mâle meurent. (Wendling ., 2012).



**Figure 12 :** Morphologie externe d'un mâle de *Varroa destructor* (Fernandez et Coineau., 2002).

A gauche : face ventrale / A droite : face dorsale

#### 4.2- Les méthodes biotechniques et mécaniques :

En complément des traitements, les méthodes biotechnique et mécanique sont très intéressantes dans le cadre d'un itinéraire technique conduit en apiculture biologique.

- Le piégeage dans le couvain mâle :

Cette technique appliquée à trois à quatre reprises entre mi-avril et début juillet permet de ralentir la dynamique de population des varroas. Une étude alsacienne montre une baisse de 25% en moyenne du nombre de varroas en fin d'année. (Ecocert., 2017)

- Le blocage de ponte par engagement de Reine :

Provoquer une rupture de ponte artificielle durant la saison apicole. Cette méthode est particulièrement intéressante lorsqu'elle est couplée avec un traitement à base d'acide oxalique,. Il faut cependant souligner que bien que très efficace cette action est ponctuelle et ne protège pas la colonie d'éventuelles ré-infestations ou d'un développement de la population en varroas résiduels avant la mise en hivernage. (Mémento., 2017).

#### **4.3- Acaricides biologiques (bactéries, champignons) :**

Les champignons Plusieurs études récentes ont aussi été réalisées pour explorer le potentiel des champignons entomopathogènes qui s'attaqueraient à *V. destructor* et non aux abeilles. Plusieurs souches semblent présenter un potentiel intéressant (Davidson et al.,2002) .Les bactéries Des bactéries appartenant aux familles des Bacillaceae et des Micrococcaceae ont montré in vitro une pathogénicité vis-à-vis de *V.destructor* (Tsagou et al.,2004). Des recherches complémentaires sont à envisager pour vérifier la possibilité de lutte biologique à partir de ces bactéries.

Dans la recherche des pathogènes de *Varroa destructor*, deux virus ont été identifiés :

Des particules d'iridovirus ont été trouvées chez des acariens issus d'une colonie d'abeilles. Cependant, ce virus semble létale à la fois pour les varroas et les abeilles et son utilisation en lutte biologique ne peut être envisagée (Vander Geest et al., 2000).

Des particules picornavirus-like ont également été décelées à l'intérieur de varroas, prouvant la multiplication de ce virus au sein du parasite. L'infection est restreinte aux caecums gastriques et ne se propage pas à l'ensemble de l'organisme (Zhang et al .,2007).

#### **Conclusion :**

*Varroa destructor* est un acarien ectoparasite originaire de l'Asie de l'Est dont l'hôte naturel est *Apis cerana*. Au milieu du 2<sup>ème</sup> siècle, est passé sur nouvel hôte, l'abeille domestique *Apis mellifera*. Peu à peu, la zone de répartition du parasite s'est étendue pour devenir mondiale. Ce parasite constitue toujours l'un des grands fléaux de l'apiculture. Pourtant, des moyens de lutte efficaces existent à travers l'emploi de traitements acaricides. Mais depuis quelques années, une recrudescence des phénomènes de résistances vis-à-vis de ces molécules est observée, ce qui met à mal l'utilisation de ces moyens de lutte sur long terme.

# PARTIE EXPERIMENTALE

## CHAPITRE I

### Matériel et méthodes

#### 1- Objectifs :

Ce travail vise à caractériser les huiles essentielles de *thymus serpyllum* L récolté dans la commune de Djendel wilaya d'Ain Defla extraite par la méthode d'hydrodistillation et d'étudier son activité acaricide contre l'agent causale de la varroase (*Varroa destructor*) parasite de l'abeille *Apis Mellifeca Mellifera* pour l'apiculture.

#### 2- Présentation du site d'expérimentation :

Les prélèvements des échantillons d'abeilles s'effectuent dans la station expérimentale de l'Université de Djillali Bounaama de Khemis Miliana (Nouveau pôle), la deuxième partie concernant l'extraction et la caractérisation des huiles se fait respectivement au niveau de laboratoire biochimie faculté SNV ST et école national des sciences agronomiques d'El Harrach Alger. Les testes de l'activité acaricide ont été réalisé au niveau du laboratoire de la faculté SNVST.



**Figure 13:** site du rucher de l'université Djilali Bounaama (Photo personnel).

### 3- Matériels et méthodes :

#### 3.1- Matériels :

##### 3.1.1- Matériel Biologique:

#### **Apis Mellifera :**

L'abeille fait partie de la grande famille des insectes et plus précisément de l'ordre des Hyménoptères. Il existe plus de 20 000 espèces d'abeilles différentes. La plus connue est l'*Apis Mellifera*, c'est-à-dire l'abeille à miel. élevée pour produire du miel. Les abeilles vivent en communauté au sein de la ruche.



**Figure 14: *Apis mellifera***

#### **Varroa destructor :**

*Varroa destructor* est un acarien ectoparasite, hémophagien de l'abeille domestique *A. Mellifera*. Il demeure la plus grande menace pour l'apiculture. Cet acarien est l'agent causé de la varroase.



**Figure 15 : *Varroa destructor***

### 3.1.2- Matériel végétal :

#### *Thymus serpyllum* L :

Les parties aériennes (feuilles et fleurs) *T. Serpyllum* ont été récoltées durant l'année (2018-2019), le matin à 8:30h, pour l'extraction des huiles essentielles. Le matériel végétal recueilli est étalé, séché, à l'air libre, pendant sept jours permettant de garantir une bonne conservation de ses paramètres physicochimiques d'une part, et d'autre part d'empêcher la prolifération bactérienne



Figure 16 : *thymus serpyllum* L (photo personnelle)

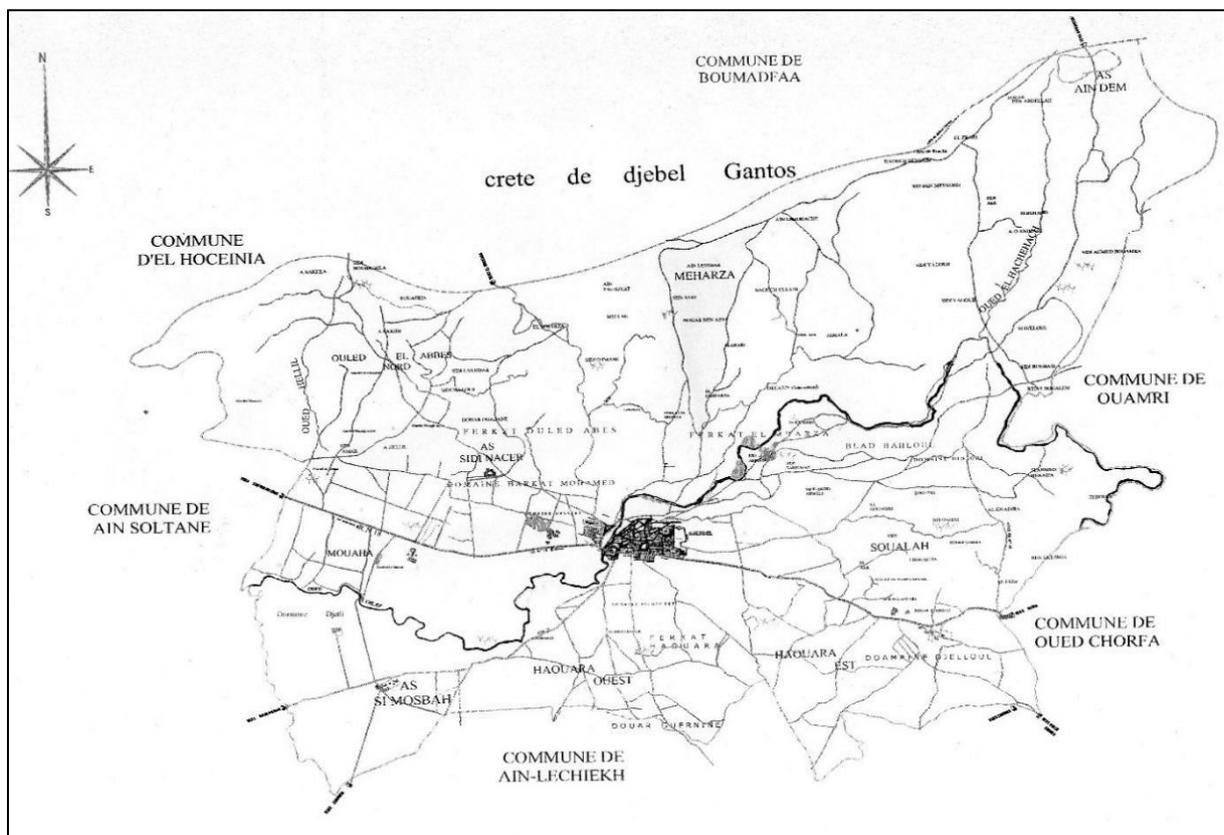


Figure 17 : Localisation de lieu de récolte sur la carte de Djendel (subdivision de l'agriculture commune de Djendel).

### **3.1.3- Matériel apicole :**

**a- Ruche :** 3 Ruches de type langstroth composées d'un plateau le corps de la ruche contient 10 cadres couverts avec un nourrisseur et un toit

**b- Enfumoir :** utilisé pour diminuer l'agressivité des abeilles

**c- La brosse :** utilisée pour nettoyer le cadre des abeilles

**d- Lève cadre :** permet d'ouvrir facilement les ruches et à décoller les nourrisseurs et les cadres propolis

**e- Combinaison :** utilisée pour éviter les piques des abeilles

### **3.2- Méthodes**

#### **3.2.1-Détermination de la matière sèche :**

La détermination de la matière sèche, dans nos échantillons, a été déterminée par le procédé de dessiccation à une température de 105°C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à la stabilité du poids pris 2g de thym séchées à l'air libre. ( AFNOR).

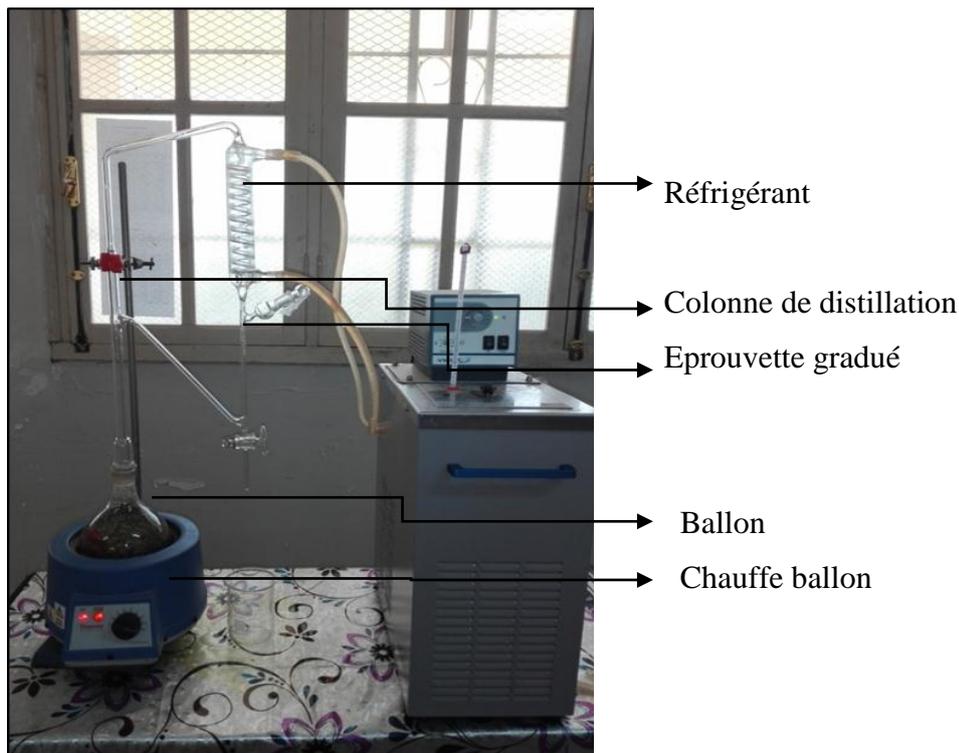
$$\text{MS\%} = \frac{\text{poids sec}}{\text{poids frais}} \times 100$$

#### **3.2.2-Extraction de l'huile essentielle :**

La plante du thym sont récoltée et la séchée à température ambiante pendant 6 à 7 jours. L'extraction d'huile essentielle du thym est réalisée au niveau de la salle de projection de département des sciences agronomique de la faculté, sur un montage de l'hydro distillation.

De chaque échantillon de 50g de plante du thym séchée a été soumises avec 500ml d'eau distillée dans le ballon de hydro-distillateur l'ensemble est porté à ébullition pendant 1h30, nous réglons la température au moitié qui entraîné l'éclatement du cellules végétales et dégagement de vapeur qui passe à partir de tube de l'appareille.

L'huile essentielle recueille par décantation à la fin de la distillation a été filtrée, récupéré et mise dans des flacons couverts par du papier aluminium et stockée à 4°C à l'abri de la lumière.



**Figure 17:** Hydro-distillateur de type clevenger (Photo personnel).

### 3.2.4- Calcul du rendement :

Selon la norme AFNOR (2000) le rendement en huile essentielle est estimé par le rapport des masses de l'huile essentielle et de la matière végétale séchée. Il est exprimé en pourcent (%).

$$R_{HE} = M_{HE} / M_{m\ vs.} \times 100$$

$R_{HE}$ : Rendement en huile essentielle (%).

$M_{HE}$ : Masse de l'huile essentielle (g).

$M_{m\ vs.}$ : Masse de la matière végétale sèche (g)

### 3.2.5- Cinétique d'extraction :

Les conditions opératoires sont les suivantes :

Masse de la matière végétale :  $M_{MV} = 50g$

Volume d'eau distillée :  $V_{ED} = 500ml$

Chauffage à la température :  $T^{\circ} = 100^{\circ}C$

Nous avons réalisé plusieurs extraction successives en fonction du temps répétitions de chaque date de cueillette ; puis nous avons calculé le rendement.



On a choisie L'Ethanol comme solvant qui dilue notre HE a étudié : *T. serpyllum* L car une composition chimique, riche en terpénoïdes et souvent en molécules polaires, permet la solubilisation des HEs dans l'éthanol.

Dilution %	HE (ml)	Ethanol (ml)
0,2	0,02	0,98
0,4	0,04	0,96
0,6	0,06	0,94
0,8	0,08	0,92
1	0,1	0,9

**Tableau 1:** Procédé de dilution d'HE

### 5.1- Traitement du varroa par inhalation :

Dans un rucher situé au niveau de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana, nous avons prélevés 60 abeilles a partie de trois ruches différentes. On été introduits chaque dix dans des boites en verre préalablement traitées avec l'HE de *T. Serpyllum* L, a déférentes doses dilue par éthanol (avec l'éthanol). L'évaluation de l'activité bio-acaricide de cette HE est realisee pour chaque cas.



**Figure 19:** Application de traitement par inhalation (Photo personnelle)

### 5.2- Les variables mesurées :

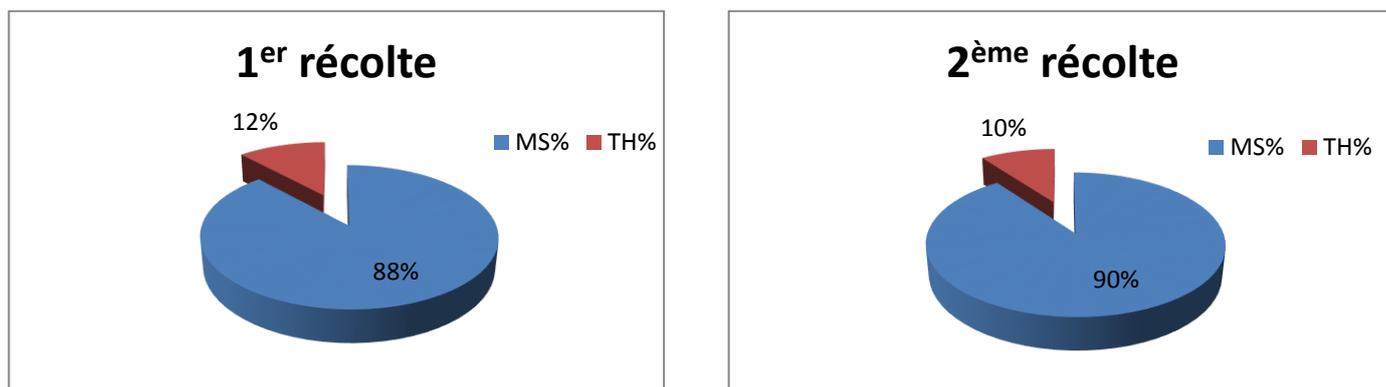
On dénombre les mortalités de varroa destructor après le traitement par inhalation des déférentes doses (0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%) et le nombre de mortalité des varroas traité par l'éthanol

## CHAPITRE II

### Résultats et discussion

#### 1- Détermination de taux de matière sèche :

Les plantes sont riches en eau, les analyses de nos échantillons de *T.serpyllum* L. de 1<sup>er</sup> récolte ont relevés un taux moyen de MS 90% et dans la 2<sup>ème</sup> récolte les échantillons de *T. Serpyllum* L ont relevés un taux moyenne de MS est 88%. (Fig 20)



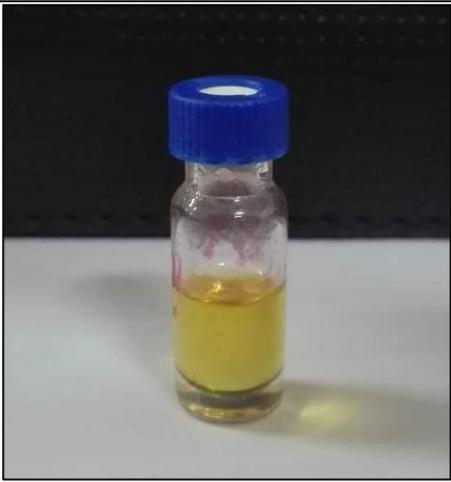
**Figure 20 :** Teneur de MS et de l'humidité de *T.serpyllum* (1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> récolte).

La 1<sup>ère</sup> récolte présenté un taux agréable de MS de *T.Serpyllum* « 88% ». Est ça dû de quelques facteurs climatiques tell le taux d'humidité relative de l'air diminue (12%) avec une température 34°C. même pour la 2<sup>ème</sup> récolte, la MS est élève «90% » à cause de taux d'humidité faible (10%) avec une température 28°C.

#### 2-Paramètres mesurés :

##### 2.1- Caractéristiques organoleptiques :

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) 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).

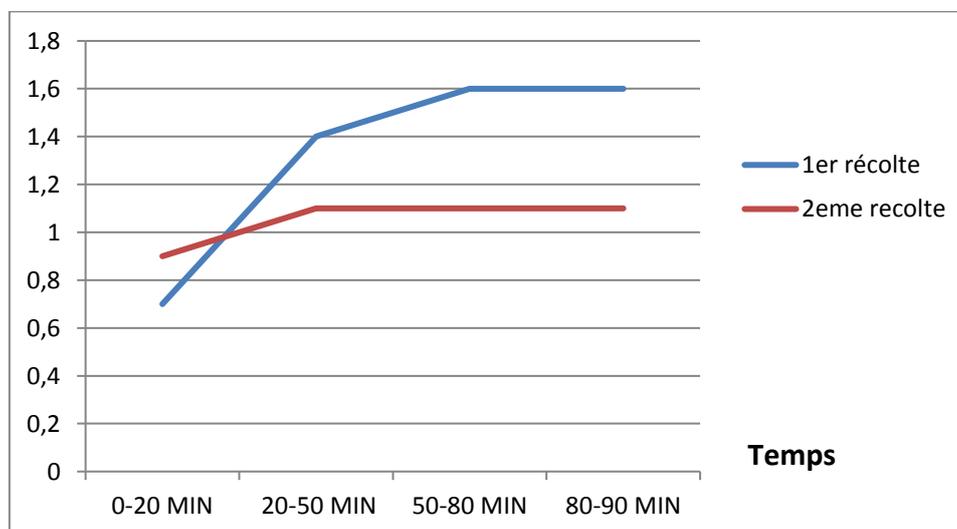
Caractéristiques	Normes (Afnor, 2000)	Résultats obtenus	
Aspect	Liquide mobile et limpide	Liquide	
Couleur	Jaune à brun rouge	Jaune	
Odeur	Epicée rappelant celle du thymol	Epicée	

**Figure 21:** HE de *T.serpyllum* L. (photo personnelle ; 2018/2019).

**Tableau 2 :** Caractéristiques organoleptiques de l'HEs de *T. Serpyllum* L.

### 2.2- Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de *Thymus serpyllum* L :

La cinétique d'extraction de l'huile est suivie en fonction du temps. Théoriquement la durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale, mais en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. La fin du processus est déterminée par le moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'HE de *T.Serpyllum* L. En fonction de la durée d'extraction, les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous :



**Figure 22** : Représentation de la cinétique d'extraction d'HE de *T.serpyllum* L.

Les variations de la quantité d'huile essentielle dans les conditions d'extraction en fonction de temps chaque 30 min indiquent dans le tableau suivant :

La durée d'extraction	<i>T. serpyllum</i> L.	
	1 <sup>er</sup> récolte (ml)	2 <sup>ème</sup> récolte (ml)
0 à 30 min	0,7	0,9
30 à 60 min	0,4	0,5
60 à 90 min	0	0,2

**Tableau 3** : la quantité d'HE extraite chaque 30minute

La quantité la plus élevée d'HE de *Thymus serpyllum* L. extraite durant la première demi heure cela du à la disposition extérieure des cellules sécrétrices et les poils sécréteurs à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées. (Scimeca et Tetau., 2005). En effet ces structures sécrétrices se rompent rapidement lorsqu'elles exposées à de fortes températures. Les composés volatils sont aussitôt évaporés d'où la courte durée pour atteindre le pic cumulatiflors de l'extraction (Mosta .,2006). Dans la 2<sup>ème</sup> période (de 30 à 60 min) la quantité des HEs extraites commence à baisse de manière progressive qui varie entre 0,4 ml et 0,5 ml respectivement pour les deux récoltes, dont les cellules sécrétrices sécrètent leurs stockage d'huile dans la période de 60 min à 90 min la quantité d'HE diminue peu à peu jusqu'à on n'observe plus d'huile dans le distillat, on peut estimer l'épuisement totale de la matière végétale.

### 2.1- Rendement d'extraction :

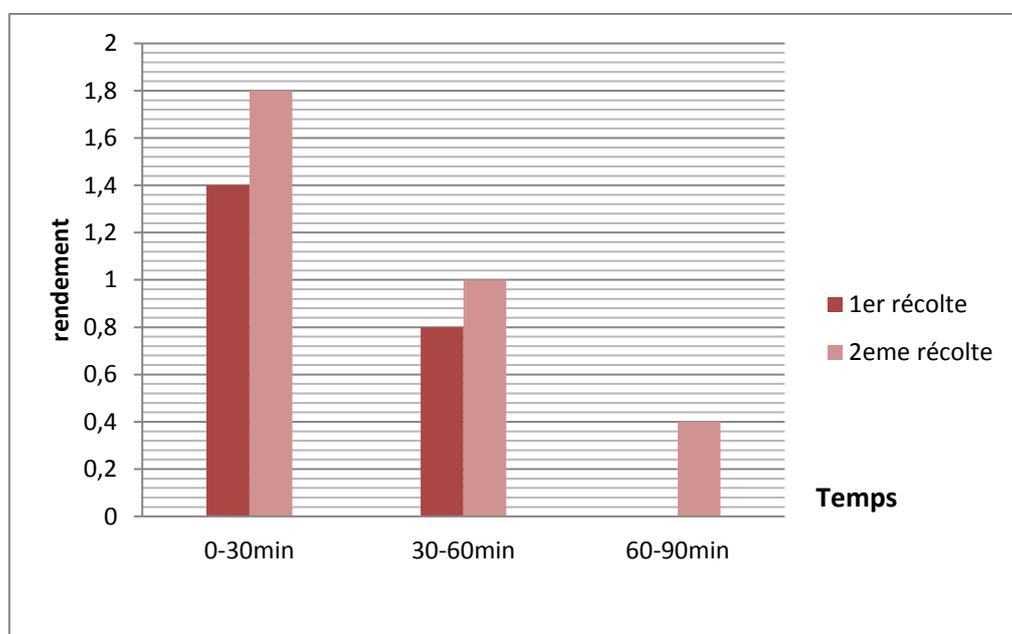
Les échantillons de *T. Serpyllum* ont fourni un rendement en HE qui varie entre 2,2 % et 3,2 % respectivement pour la première récolte au mois d'Août 2018 et la deuxième récolte au mois de Mai 2019 qui correspond à la période de pleine florescence de la plante et début floraison.

La quantité la plus élevée des HEs de *T.Serpyllum* L extraite durant la 1<sup>h</sup> 30<sup>min</sup> est dû à la disposition extérieure des cellules sécrétrices et les poiles sécréteurs à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées (Simeca et Tetau, 2005). En effet, sa structure

sécrétrice se rampant rapidement lorsqu'elles sont exposées à de fortes températures après l'ébullition. (Tableau).

Temps	Rendement	
	1 <sup>er</sup> récolte	2 <sup>ème</sup> récolte
0-30 min	1,4	1,8
30-60 min	0,8	1
60- 90 min	0	0,4

**Tableau 4** : la quantité d'HE extraie chaque 30 min.



**Figure 23** : Présentation graphique de la variation de rendement d'HE de *T.Serpyllum L*

Les rendements moyens en HE ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les échantillons de *T. Serpyllum L* ont fourni un taux de 2,2%, 3,2% pour le 1<sup>er</sup> et la 2<sup>ème</sup> récolte.

Ces résultats montrent une relative similitude comparativement aux études effectuées par Wafaa et al, (2017) qui montre que le meilleur rendement en HE de *T. Serpyllum L* a été obtenu en période de floraison et variée entre 1,46 dans la 1<sup>ère</sup> récolte et 1,82 dans la 2<sup>ème</sup> récolte.

#### 2.4- Caractérisation des HEs de *T. serpyllum* L. par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/ SM) :

Les analyses chromatographiques des HEs de nos échantillons ont permis d'identifier 19 composés représentant environ **92,70 %** de la masse total.

L'HE de *T. Serpyllum* L est composé principalement par un taux élevé de **thymol (73,71 %)**,  **$\gamma$ - terpinène (6,26%)**, **P. Cymène (4,75 %)**

Nom des composés	30 min (%)	60 min (%)
$\alpha$ – thujène	0,92	0,68
$\alpha$ – pinène	2,67	1,06
Camphène	0,09	0,015
$\beta$ – pinène	0,04	0,09
Myrcène	1,26	0,86
Phellarene	0,10	0,09
Carène	0,07	0,05
Terpinène	1,09	0,83
<b>p. Cymène</b>	<b>5,46</b>	<b>5,05</b>
Limonène	0,66	0,31
<b><math>\gamma</math> – terpinène</b>	<b>10,17</b>	<b>7,09</b>
Linalol	2,23	2,48
Camphre	0,11	0,10
Bornéol	0,28	0,17
Menthol	0,19	0,26
Alpha. Terpéneol	0,09	0,04
Carvacrol	0,69	0,47
<b>Thymol</b>	<b>65</b>	<b>74</b>
B. Caryophellene	0,10	0,02

**Tableau 5:** Composition chimique d'HE de *T. Serpyllum* L après 30- 60 min

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles de nos échantillons ont permis D'identifier 19 composés de *T.Serpyllum* L, après 30 - 60 et 90min d'extraction montrent

bien l'influence de durée d'extraction sur le taux des principaux composants de huile essentielle. La comparaison des trois durées d'extraction de thym montre un polymorphisme au niveau de la composition chimique avec un composé majoritaire en commun qui est le thymol (73,71%). La composition chimique de *Thymus Serpyllum* L. marquée par la présence du  $\gamma$ -terpinène (6,26%); P-Cymène (4,74%) et  $\alpha$ -pinène (1,42%) comme constituants majoritaires.

Nom des composés	90 min (%)
$\alpha$ – thujène	0,28
$\alpha$ – pinène	0,52
Camphène	Trace
$\beta$ – pinène	0,04
Myrcène	0,39
Phellarene	--
Carène	---
Terpinène	0,30
<b>p. Cymène</b>	<b>3,75</b>
Limonène	0,10
<b><math>\gamma</math> – terpinène</b>	<b>1,54</b>
Linalol	2,77
Camphre	0,16
Bornéol	0,33
Menthol	0,31
Alpha. Terpéneol	--
Carvacrol	0,57
<b>Thymol</b>	<b>82,13</b>
B. Caryophellene	0,05

**Tableau 6:** Composition chimique d'HE de *T. Serpyllum* L après 90min

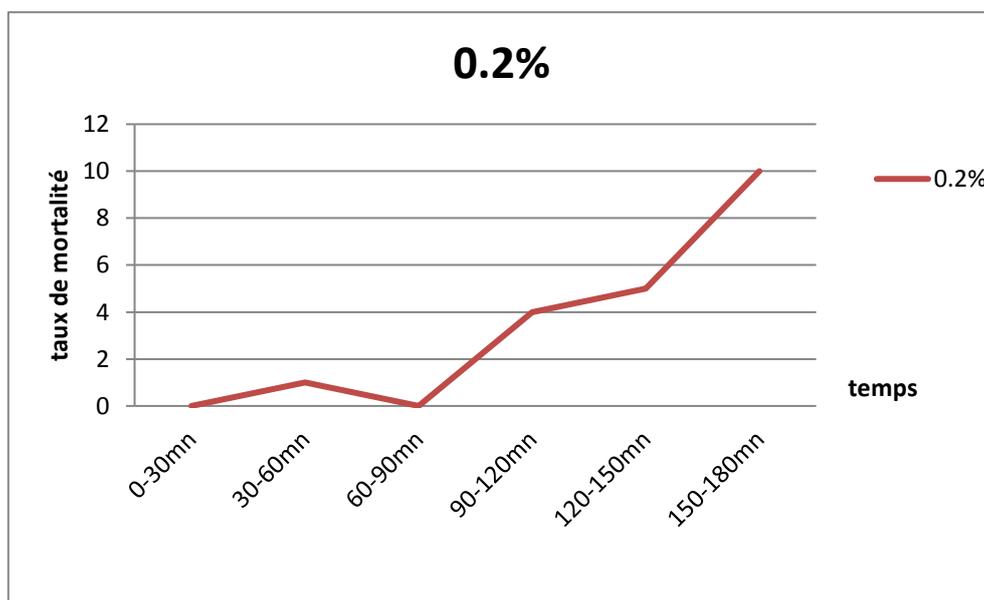
Les analyses chromatographiques des huiles essentielles de nos échantillons ont permis D'identifier 19 composés représentent environ 92 ,70% de la masse total de *Thymus serpyllum*L après 1h30min d'extraction montrent bien l'influence de durée d'extraction sur le

taux des principaux composants de huile essentielle. Le composé majoritaire qui est le Thymol. La composition chimique de *Thymus serpyllum* L. marquée par la présence du thymol(82 ,13%) ; y-terpinène (1,54%) et P-Cymène (3,75%) comme constituants majoritaires.

### 2.5- Activités acaricides des HEs du Thym :

	0-30mn	30-60mn	60-90mn	90-120mn	120-150mn	150-180mn
<b>0.2%</b>	0	1	0	4	5	10
<b>0.4%</b>	0	0	1	4	6	10
<b>0.6%</b>	1	3	3	5	7	10
<b>0.8%</b>	1	2	4	7	8	10
<b>1%</b>	2	4	6	6	7	10
<b>Ethanol</b>	0	0	2	5	8	10

**Tableau 6 :** Le nombre des mortalités des abeilles chaque 30min.



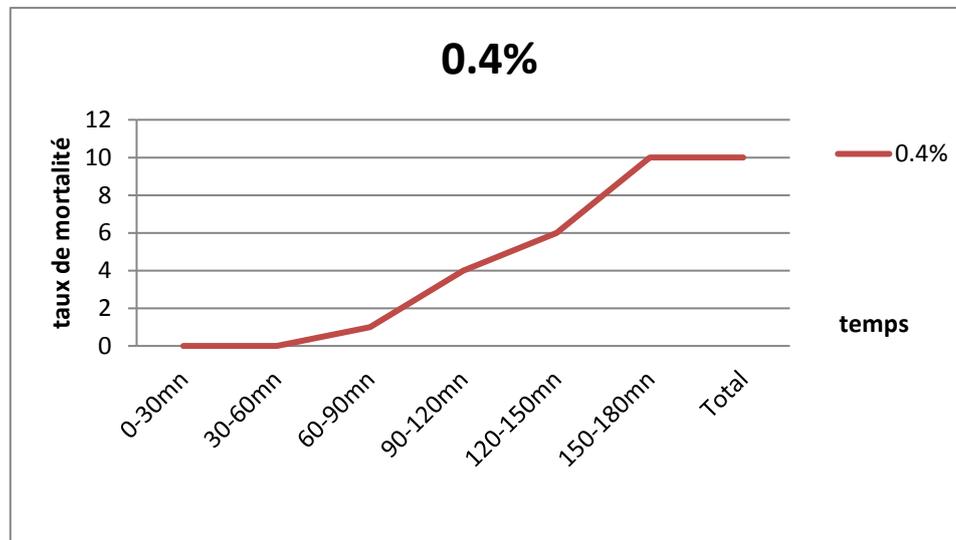
**Figure 24:** Traitement acaricide à la dose 0.2 %

Les traitements avec les HEs *Thymus serpyllum* L. n'agit pas directement sur les abeilles avec la dose 0.2%, la mortalité d'abeille passe de 1 individu lors de premier comptage à 5 à la fin du comptage.

Cette augmentation est due à l'effet des HEs par inhalation par contacte avec la surface

d'abeille

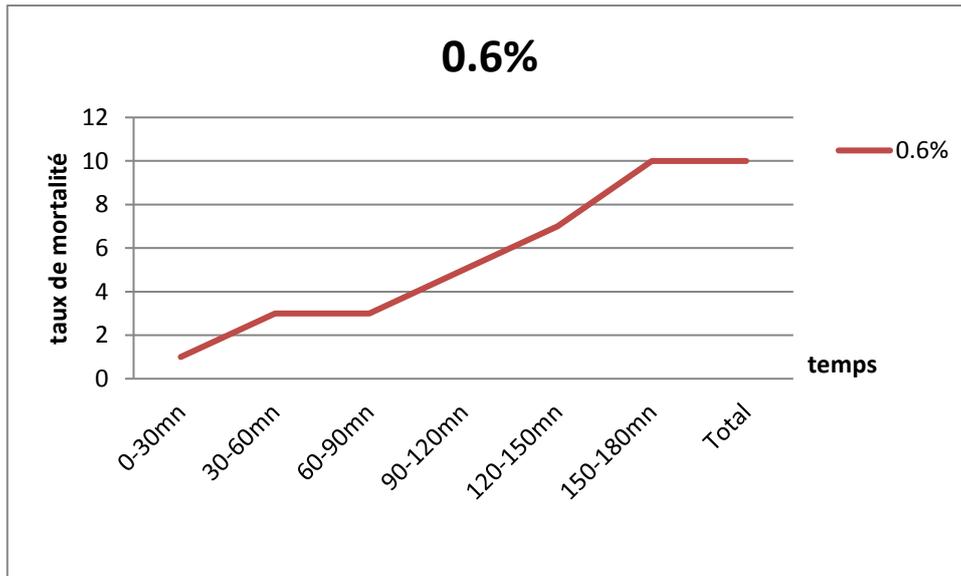
La mortalité d'abeille pendant le 1<sup>er</sup> traitement varie de 1 à 5 abeilles respectivement après un temps de traitement de 60min à 120min, 150min et 180min. soit un totale de 10 abeilles pendant une durée de 3h.



**Figure 25:** Traitement acaricide à la dose 0.4 %

N'agit pas directement Les traitements avec les HEs *Thymus serpyllum* L sur les abeilles avec une dose de 0.4 %, plus d'1 individu mort lors de premier comptage à 4 à la fin du comptage. L'effet des HEs par inhalation par contacte avec la surface d'abeille augment.

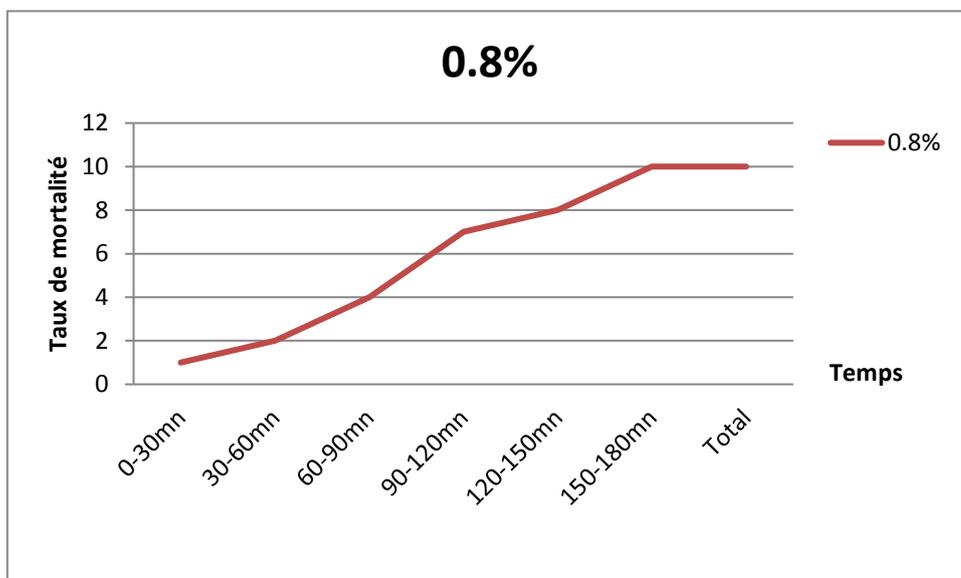
La mortalité d'abeille pendant le 2<sup>eme</sup> traitement varie de 1 à 4 abeilles respectivement après un temps de traitement de 90min à 120 min, 150min et 180 min. soit un totale de 10 abeilles pendant une durée de 3h.



**Figure 26:** Traitement acaricide à la dose 0.6 %

La dose 0,6 marque un nombre de mortalité passe 1 individu lors de premier comptage à 3 individu à fin de comptage.

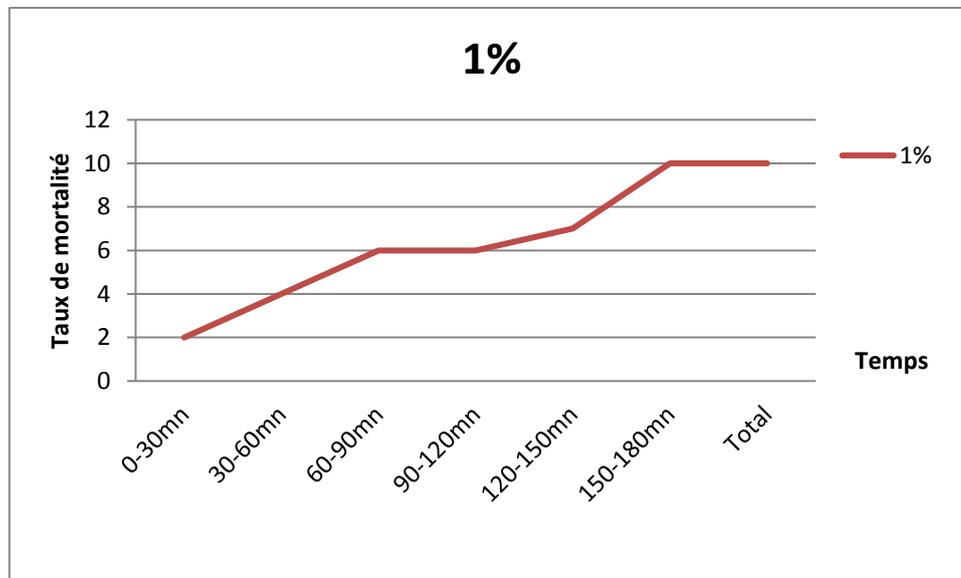
Le taux de mortalité varié entre 1à 3 abeilles, un totale de 10 abeilles pendant une durée de 3heures.



**Figure 27:** Traitement acaricide à la dose 0.8 %

la mortalité d'abeille passe de 1 individu lors de premier comptage à 2 à la fin du comptage avec la dose de 0,8%.

Cette augmentation est due à l'effet des HEs par inhalation par contacte avec la surface d'abeille. La mortalité d'abeille pendant le 4<sup>eme</sup> traitement varie de 1 à 2 abeilles respectivement après un temps de traitement de 30min 60 min 90min à 120 min 150min et 180 min.

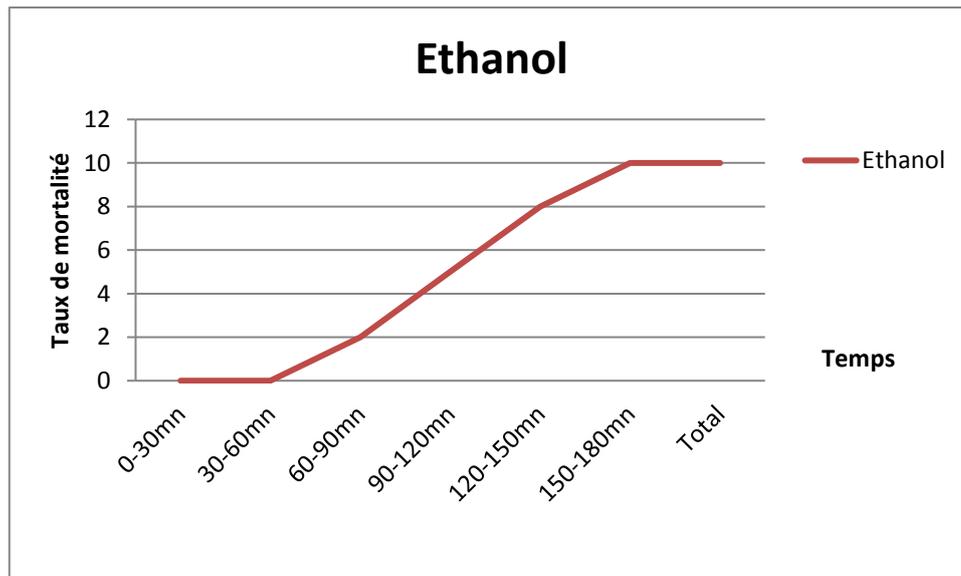


**Figure 28:** Traitement acaricide à la dose 1 %

La dose 1% marque un nombre de mortalité passe 2 individus lors de premier comptage à 3 individu à fin de comptage.

Le taux de mortalité varié entre 2 à 5 abeilles, un totale de 10 abeilles pendant une durée de 3heures.

Cette augmentation est due à l'effet des HEs par inhalation par contacte avec la surface d'abeille.



**Figure 29:** Traitement acaricide à l'Ethanol

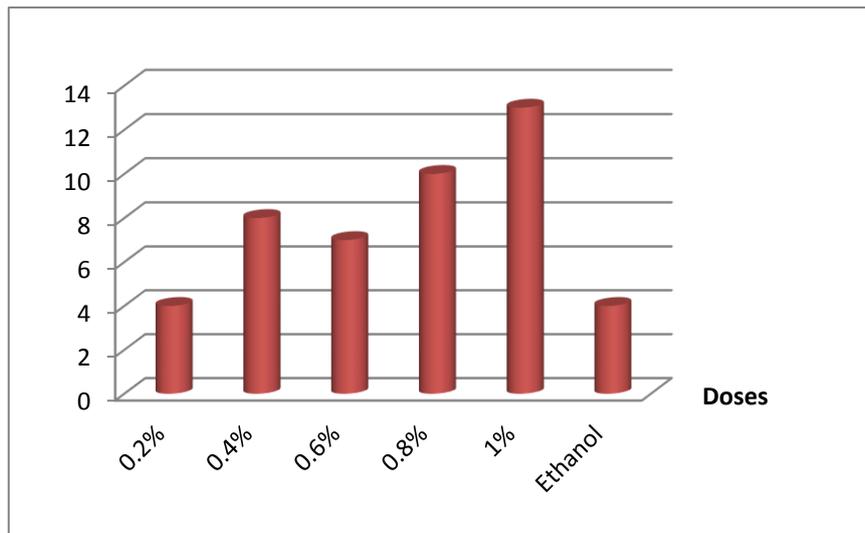
Les traitements avec les HEs *Thymus serpyllum* L. n'agit pas directement sur les abeilles avec l'Ethanol, la mortalité d'abeille passe de 2 individus lors de premier comptage à 2 individus à la fin du comptage.

Cette augmentation est due à l'effet des HEs par inhalation par contacte avec la surface d'abeille

La mortalité d'abeille pendant le 6<sup>ème</sup> traitement varie de 2 à 2 abeilles respectivement après un temps de traitement de 90min, 120 min, 150 min. soit un totale de 10 abeilles pendant une durée de 3h.

Doses	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1%	Ethanol
Nombre de mortalité	4	8	7	10	13	4

**Tableau 7:** Nombre de mortatilité de *Varroa destructor*



**Figure 30** : Présentation graphique de nombre de mortalité de *Varroa destructor*

Le pic de mortalité est de 13 acariens observés après une durée de traitement de 30 minutes pour la dose 1%. Les pics de mortalité sont déferents pour les doses 0,2%, 0,4%, 0,6% et 0,8% avec un nombre de 7, 12, 5 et 8 individus respectivement après une durée de traitement de 01h, 1h30 min, 2h et 2h30 min respectivement.

A dose de 0,1% a les mêmes effets que l'éthanol avec un pic de mortalité de 03 et de 02 respectivement après une durée de traitement moyenne de 40h à 44 heures. Celle du témoin, on n'enregistre aucune mortalité et les larves continuent leur évolution biologique (nymphe-papillon).

## Conclusion général

Ce travail a été mené dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles de lamiacées Algériennes et particulièrement *Thymus serpyllum* L. poussant à l'état sauvage dans la commune de Djendel, wilaya d'Ain Defla.

L'extraction d'HE de *T. serpyllum* L est réalisée par hydrodistillation. La caractérisation des extraits est réalisée par CG et CG/MS ainsi qu'une évaluation de leur potentiel acaricide. Le rendement obtenu est de 1.46 % durant le moi d'Août 2018 et de 1.82% durant le moi de Mai 2019 une période caractérisée par une photopériode optimale (14 heures) propice à la biosynthèse des huiles essentielles. En plus, elle coïncide avec la période de floraison de la plante étudié.

19 composés sont identifiés représentant 92.70% de la totalité des constituants pour l'espèce *T. serpyllum* L. Les composés majoritaires sont Thymol (73.71%),  $\gamma$ -terpine (6.26%), picymene (4.75%), carvacrol (0.57%) et le  $\beta$  – pinène (0.05%). Ce résultat a révélé par conséquent l'existence d'un chémotype d'HE caractérisé par la prédominance du composé à savoir Thymol.

La mise en évidence de l'activité acaricide par la méthode d'inhalation à différentes doses a montré un effet acaricide très remarquable d'HE de *Thymus serpyllum* L. sur *Varroa destructor*. Les meilleur résultats ont été obtenues avec les doses (0.6%, 0.8% et 1%) avec un nombre d'individus mort respectivement 7, 10 et 13 après une durée de traitement de 2h, 2h30min et 3h.

Enfin, le traitement contre *Varroa destructor* par l'HE *thymus Serpyllum* L c'est révélé très efficace, et mériterait d'être proposé comme un « bio-acaricide » contre *Varroa destructor*, un traitement naturel, simple et sans contre- indications.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A.

**AFNOR (Association Française de Normalisation). 2000.** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles. Paris.

**Akrout, A et Arides, R., 2014.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie), (June).

**ANDERSON DL, TRUEMAN JWH (2000).** *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.*, 24, 165-189

### B.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008).** Review MI-Biological effects of essentielles oils-A review food and chemical toxicology, vol. 46; pp 446-475

**Benini C. (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, pp109.

**Besombes C., 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.

**Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S.et Abrini J. 2006.** Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006.

**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.

### C.

**Calderone N.W, Nasr M.E. (1999).** 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. Entom.*92(3) : 526-533.

**Charrière et Imdorf., 2007,** protection des rayons contre la teigne *Galleria mellonella* L. Edition 1997. Centre suisse de recherches apicoles.

**Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Bartels P.V., et Chemat F. (2004).** Comparison Of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 19, pp : 188 – 195.

#### D.

**Degryse A.C, Delfa I et Voinier M.A., 2008.** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. (2008). 94, 8-11.

**Dimitrijevic S.I, Mihajlovski K.R, Antonovic D.G, Milanovic-Stevanovic M.R, Mijin D.Z., (2007)** -A study of the synergistic antilisterial effects of a sub – lethal dose of lactic acid and essential oils from thymus vulgaris L., Rosmarinus officinalis L. and Origanum vulgare L – Food chemistry ; Vol.104 ; pp 774-782.

**Dob T, Dahmane D, Chelghoum C., (2006).** Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oil of Thymus algériensis Boiss et Reuter- The International Journal of Aromatherapy.

#### F.

**Faleiro M, Miguel M.G, Ladeiro F, Venancio F, Travares R, Brito J.C ET Perdo L.G., 2003.**Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus. Lett. Appl. Microbiol., 36, 35-40

**Fellah S, Ramadhan M, Abderraba M., (2006).**Extraction et étude des huiles essentielles de la Salvia officinalis.L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie - Journal de la Société Algérienne de Chimie J. Soc. Alger. Chin.; Vol. 16; N°2; pp 193-202

**fakhimzadeh k. (2001).** Détection of major mite pests of apis mellifera and developement of non-chemical conyrol of varroasis. Academic Dissertation, Faculty of agriculture and forestry of the University of Helsinki, p47.

**Fernandez N. Coineau Y. (2002).** Varroa, tueurs d'abeilles. Bien le connaitre, pour mieux le combattre. Edition Atlantic, Biarritz, France, 237p

#### G.

**Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A., Rasooli I. (2007):** Chemical and Biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils- Food Chemistry; Vol. 102; pp: 898-904

**Gherman C., Culea M., Cozar O., (2000).** Comparative analysis of some active orincipales of herb plants by GC/MS- Talanta; VOL.53; pp253-262.

**Gilles M. (2012)** .Blocage de ponte et sélection. La Santé de l'Abeille. 248 ;149-154.

**Gomes P B, Mata V G, Rodrigues A E., 2004.** «Characterization of Portuguese grown geranium oil (*Pelargonium* sp.) ». J. Essent. Oil Res. 16 (2004) 490–495.

**González-Trujano M E, Peña E I, Martínez A L, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, López-Muñoz F J., 2007.** Evaluation of the antinociceptive effect of

Rosmarinus officinalis L. Using three different experimental models in rodents *J theopharmacol.* 111:476-482.

#### H.

**Heng SS, Huang CG, Chen WJ, Kuo Yh, Chang ST., 2008.** Larvicidal activity of tectoquinone isolated from red heartwood-type *Cryptomeria japonica* against two mosquito species. *Bioresour Technol* 99: 3617–3622.

**Hettiarachichi D.S., 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., Jawich D., et Aitour S. (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *lamiaceae*. *Lebanese Science Journal*; vol 67; pp 43-51

**Hudaib M, Speroni E, Pietra A M D, Carvin V., 2002.** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and varia.

#### I.

**Indorf A, Charriere j.-D. ; Kilchenmann V, Bogdanov S., Fluri P. (2003) .** Alternative strategy in centrale Europe for the control of *Varroa destructor* an honey bee colonies. *Apiacta* .38 :258-285.

#### K.

**Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabed K., 2005.** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils forms Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15, 129-133

**Kouache BN., Brad M., Rekkab. R, Esserir A. (2012) ;** L'effet de dose de traitement des huiles essentielles de *Thymus Vulgaris* récoltes de deux massifs de montagne sur l'activité acaricide de *Varroa destructor* .Séminaire National sur les plante Aromatiques et Médicinales 2012.SNPAM 12 KHEMIS MILIANA 5 ET6 NOVEMP2016

**Kutukoğlu F, Girişgin A.O, Aydın L., 2012.** Varroacidal efficacies of essential oils extracted from *Lavandula offi cinalis*, *Foeniculum vulgare*, and *Laurus nobilis* in naturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*2012 ; 36(5) : 554-559  
TUBİTAK doi : 10.3906/vet-1104.

## L.

**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.

**Lee SJ et al, (2005).** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*thymus vulgaris* L.) And their antioxidant properties.

Lodesani, M. (2004). Control strategies against *Varroa* mites. *Parassitologia*, 46: 277–279

**Loziene K and Venskutonis P.R., 2006.** Chemical composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* L. ssp. *serpyllum* growing wild in Lithuania. *Journal of Essential Oil Research.* 2006 ; 18(2) :206–211.

**Lucchesi ME. (2005)** « Extraction sans solvant assistée par microondes: Conception et application à l'extraction des huiles essentielles ». Thèse de Doctorat en sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, juillet 2005. p 17 ; 23, 52.

## M.

**Mahmoud B.S.M, Yamazaki K.II-Shik S, Dong-Suk C and Suzuki T., 2004.** Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food microbiology*, 21(6), 657-666

**Miller, (2006).** Cacogenic glycosides from the rare Australian endemic rain forest tree *Clerodendrumgrayi* (Lamiaceae)-Phyto chemistry; Vol. 67; pp 43–51.

**Mohammedi 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.

**Mosta N.M., (2006).** Essential oil yield and composition of rose scented geranium (*Pelargonium* sp) as influenced by harvesting frequency and plant shoot age. Thesis of doctorat MSC Agronomy, faculty of natural and agricultural sciences, university of Pretoria, South Africa, October 2006.

## N.

**Naghibi F., Mossadegh M., Mohammadi M.S et Ghorbani A. (2005):** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to pharmacology – *Iranian journal of pharmaceutical Research*; Vol. 2;pp 63-79.2005

**Nickavar B., Mojab F., Dolat-Abadi R. (2005).** Analysis of the essential oils of two *Thymus*

## O.

**Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA).** Page consultée le 23 Mars, 2013).  
Maladies.

## P.

**Pibiri M.C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huile essentielle. Thèse de doctorat. Polytechnique fédéral de Lausanne.

**Pibiri M.C., (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle.

**Philippe J.M. (1994).** Agrandissement du rucher, création de nouvelles colonies. In : Le guide de l'apiculteur Edisud, Aix-en-Provence, 56-57.

## R.

**Rajgovind S, Gaurav S and Nakuleshwar D.J., 2016.** Essential Oil Yield Pattern and Antibacterial and Insecticidal Activities of *Trachyspermum ammi* and *Myristica fragrans*. Volume 2016 (2016), Article ID 1428194, 7 pages  
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1428194>

**Remal A., Bouchikhi T, Rhayour K., Ettayeb M., (2017):** improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Essent. oil. Res*, p. 5.179-184.

## S.

**Saidj F., (2006).** Extraction de l'huile essentielle de thym: *Thymus numidicus kabylica*- Thèse de magistère en Technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés chimiques et pharmaceutiques; université M'Hamed Bougara – Boumerdes.

**Scimeca D et Tétou M (2005).** Votre santé par les huiles essentielles, Guide pratique pour prévenir et guérir tout les maux quotidien, ed. Alpen, p. 12, 13. Selmi S., ET Sadok, S. (2008) The Effect Of Natural Antioxidant (*Thymus Vulgaris Linnaeus*) On Flesh Quality Of Tuna (*Thunnus Linnaeus*) during Chilled Storage .pan-American Journal Of Aquatic, 3(1).pp:36-45.

**Simoneau A. (2004).** La Varroase, MAPAQ- CQIASA. Laboratoire de pathologie animale. 19pp <http://www.agrireseau.qc.ca/apiculture/documents/Varroase>

**Silano V and Delbò M (2008).** Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller.  
Ema, 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. Fac

**Slimane Z. (2002).** Contribution L'évolution D'hé Des Ecorces De Fruits De Certaine Rutacée.

**Song J.K, Jeong-Moon L, Na-Hyun Y, Ji-Yeon L, 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).

**Soto–Mendivilea; Morenorodringuers J.F; Esstarronespinozam et GARCIA-FAJARDOJA., 2006.** Chemical composition And Fungicidal Activity of Essential Oil of Vulgar against Alternaria. Cite –E- gnosis (online); Vol.4, N° 16.

**Stahl-Biskup E., 2002.** Thyme: the genus thymus Ed Taylor and Francis, London. Thymus

#### T.

**Teuescheet E., Anton R., Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier Tec et Doc, Paris.

**(The Food and Environnent Research Agency. (2010).** Managing *Varroa*. York, UK, 44p.

#### W

**Wendling S. (2012).** *Varroa destructor* (Anderson Et Trueman, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis Mellifera* LINNAEUS, 1758. Revue bibliographique et contribution a l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecin, Créteil, 190 p.

#### Z

**Zeghad N. (2009).** Etude de contenu polynolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *Rosamariuns officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine