



**République Algérienne Démocratique et
Populaire**
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique**
**Centre Universitaire El-wancharissi de
Tissemsilt**



Institut de Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la nature et de la vie
Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en
Filière : Biologie
Spécialité : Biochimie appliquée
Présenté par :
RENANE HADJIRA NASSIMA
SABAGH SOMIA
KHATAF ELMENDIL MOUSTAFA
Thème

Etude préliminaire de l'activité biologique d'un liquide ionique

Devant le Jury :

BEDDAL Amira	Présidente	M.A.B.	CU-Tissemsilt
CHAHBAR Mohamed	Encadreur	M.C.B.	CU-Tissemsilt
CHAKER Yassine	Co- Encadreur	M.C.B.	CU-Tissemsilt
LAABAS Saadia	Examinatrice	M.C.B.	CU-Tissemsilt

Année universitaire : 2019-2020

Remerciement

Nous aimerons tout d'abord remercier Allah le tout puissant qui nous adonné l'envie et la force pour mener à terme ce travail. Nous tenons à remercier chaleureusement nos parents qu'ils nous ont appris l'amour de la science et la persévérance dans la vie et pour leurs tendresses et leurs encouragements pendant toutes nos vies.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à

A nos chers frères et sœurs

A tous les membres de nos familles

A nos amis (es).

A Tous ceux qui nous sont chers.

Nous voudrions, bien évidemment, remercier très sincèrement Monsieur CHAKER YASSINE, encadreur de notre travail, et Monsieur CHAHBAR MOHAMED, co-encadreur, pour leurs qualités humaines, pour nous avoir apportés toutes leurs énergies et leurs dynamismes pour mener ce travail de recherche, pour toutes leurs qualités ainsi que leurs savoirs dans des domaines scientifiques très diversifiés. Ils ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

Nous offrons nos remerciements, nos appréciations et nos respects à nos enseignants qui ont partagé avec nous leurs connaissances et leurs savoirs.

C'est un agréable devoir d'exprimer nos remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de loin ou de près, à l'accomplissement de ce travail.

Table des matières

Introduction **P4**

Partie bibliographique

Chapitre I : Liquides ioniques

I.1. Les liquides ioniques	p9
I.1.1.Définition	p9
I .2)Histoires des différentsliquides ioniques	p10
I .3)Propriétés physico-chimiques des liquides ionique	P16
I .3.1) Le point de fusion :	P19
I .3.2)La densité	P16
I .3. 3) La viscosité	P17
I .3.4)La Conductivité électrique	P17

Chapitre II:Données bibliographiques sur l'abeille domestique

II.1)Généralités sur les abeilles	p19
II.2)Systématique	P19
II. 3)Morphologie de l'abeille :	P20
II.4)Les effets des facteurs environnementaux sur les abeilles	P21
II.5)Les maladies d'abeille	P22
II.5 .1)La loque américaine	P22
II.5 .1.1)Agent causal	P22
II.5.1.2)Pathogénie	P23
II.5 .1.3)Symptômes	P23
II.5 .1.4)Cycle biologique	P24
II.5 .1.5)transmissions de la maladie	P25
II.5 .1.6) diagnostic	P26
II.5 .1.7)La distribution	P27
II.5.1.8)Virulence	P30

II.5 .1.9)Technique de préparation des abeilles au diagnostic de la loque américaine (isolement de la bactérie)	P31
II.5 .1.9.1) Prélèvement des échantillons	P31
II.5 .1.9.2)Analyse des échantillons	P31
II.5 .1.10)La lutte contre la loque américaine	P31
II.5 .1.11)Traitement	P32
II.6)L'ascosphérose (<i>Ascosphaera apis</i>) :	P33
II.6.1)L'agent causal	P34
II.6.2)Pathogénicité	P34
II.6.3)Symptômes	P35
II.6.4)transmissions de la maladie	P36
II.6.5)La distribution	P37
II.6.6)Virulence	P38
II.6.7)La lutte	P39
II.6.8)Traitement	P40
<u>Chapitre III : Partie expérimentale</u>	
III.1)la synthèse des liquides ioniques	P42
III.1.1)Matériels et méthode	P42
III.1.2)Mode opératoire	P43
<u>Chapitre IV :Discussion</u>	P44
Conclusion générale et perspectives	p48
Résumé	P49
Annex	P50
Référence	P53

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale :

Les insectes constituent le groupe zoologique le plus important de notre planète. Parmi eux nous trouvons l'abeille(Reynaldi *et al.*, 2015). Les abeilles constituent un maillon essentiel de la chaîne qui contribue à maintenir l'équilibre des écosystèmes. Elles jouent un rôle primordial dans les diverses phases de la vie de nombreuses espèces végétales et animales(Morse et Calderon, 2000 ; Jaffé *et al.*, 2010 ; Muñoz *et al.*, 2014 ; Breeze *et al.*, 2014).

L'abeille mellifère (*Apis mellifera*) est une ressource inestimable pour l'humanité et l'environnement mondial. Si le miel et les produits de la ruche sont consommés à travers le monde, la pollinisation est de loin la contribution la plus précieuse de l'abeille mellifère (Aizen *et al.*, 2009). Les abeilles contribuent à près de 90% de la pollinisation des cultures dans le monde (Klein *et al.*, 2007).[79]

Les abeilles et l'apiculture contribuent depuis des siècles aux moyens d'existence des populations dans presque tous les pays du monde. De plus, le miel et les autres produits issus des abeilles sont connus depuis toujours par toutes les sociétés humaines. La diversité des espèces d'abeilles en Algérie (Loucif-Ayad *et al.*, 2009 ; Chahbare *et al.*, 2013 ; Loucif-Ayad *et al.*, 2014 ; Haddad *et al.*, 2015b), leurs usages et les pratiques apicoles varient grandement entre les régions, mais leurs bienfaits sont unanimement reconnus. Situées au carrefour des mondes végétal et humain. Les abeilles jouent depuis longtemps un rôle prépondérant dans le fonctionnement des écosystèmes (Clélia J, 2013) .la production du miel représente-elle une branche importante de l'économie agricole(Gallai *et al.*, 2009).

Une des stratégies envisagées pour l'évaluation d'un impact environnemental est celle des indicateurs biologiques. On sait à présent que tout organisme, vivant dans son propre écosystème, est le résultat des conditions

Introduction générale

physiques, chimiques et biotiques du milieu dans lequel il se développe(Sabatini, 2005).

Les abeilles sont d'excellents indicateurs biologiques parce qu'elles signalent la dégradation chimique de l'environnement dans lequel elles vivent(Sabatini, 2005), et ce par le biais de deux signaux : le degré de mortalité plus ou moins élevé et les différents niveaux de dommages subis par les abeilles elles-mêmes en présence de substances phytosanitaires utilisées en agriculture(Anna J, 2005).[32]

Les apiculteurs sont confrontés chaque année à des pertes dépassant les limites optimales (Adjelane*et al.*, 2015). Plusieurs facteurs ont été avancés pour expliquer la mortalité des colonies(Loucif-Ayadet *et al.*, 2013 ; Lucia *et al.*, 2014 ; Adjlane*et al.*, 2015; Park *et al.*, 2016 ;Chaimanee*et al.*, 2016). De nombreux apiculteurs conduisent des plans de sélection visant des objectifs précis : conserver un écotype d'abeilles locales ou améliorer une ou plusieurs caractéristiques, pour la résistance aux maladies. Ces plans nécessitent d'importants moyens techniques et humains. Parmi les facteurs qui représentent une menace pour les abeilles (bactéries, champignons, virus divers,...), parasites, prédateurs, etc., de nombreuses espèces invasives posent problème aux abeilles (virus, frelon asiatique et surtout le Varroa, un parasite identifié comme le premier responsable de la disparition des abeilles)(A ,Ballis,2016).[23]

L'abeille domestique est menacée par un certain nombre de maladies, à savoir, l'acariose, la maladie noire ou mal des forêts(Loucif-Ayadet *et al.*, 2013 ; Adjlane*et al.*, 2015 ; Amakpe*et al.*, 2015 ; Hamiduzzaman*et al.*, 2015), la nosérose (Chahbar et al., 2016), la loque européenne, la loque américaine (Chahbar, 2017), le couvain sacciforme, le couvain plâtré, la varroase, la fausse teigne et l'ascosphérose(Jensen *et al.*, 2013 ; OIE, 2014 ; Hemmerlé,

Introduction générale

2015). Certains apiculteurs utilisent les antibiotiques comme un traitement contre les maladies de l'abeille, affectant la qualité du miel produit ainsi que la santé humaine lors de la prise de ce miel, et c'est pourquoi nous avons pensé à traiter les colonies d'abeille avec des solutions plus naturelles comme le liquide ionique.

Nous avons trouvé utile de diviser ce présent document en trois parties. La première porte sur les données bibliographiques sur l'abeille domestique, ainsi sur, la synthèse d'un liquide ionique, leur nature très modulable et leurs propriétés. La deuxième partie est consacrée pour le matériel et la méthode de travail. Enfin, une troisième partie consiste à développer une discussion en relation avec la possibilité d'utilisation des liquides ioniques comme étant un produit naturel contre les maladies de l'abeille.

Partie bibliographique

Chapitre I

Liquide ionique

Chapitre I Liquide ionique

I.1. Les liquides ioniques :

I.1.1.Définition :

La question de la définition d'un « liquide ionique » fait l'objet de nombreux débats depuis plusieurs années. Dans la littérature on peut trouver plusieurs appellations pour les liquides ioniques « sels fondus », « sels liquides organiques » ou « liquides ioniques à température ambiante ».

Les liquides ioniques sont des sels organiques liquides se différenciant de l'ensemble des sels fondus liquides par une température de fusion inférieure à 100°C (arbitrairement fixée en référence à la température d'ébullition de l'eau) mais un grand nombre d'entre eux sont liquides à température ambiante classiques comme le NaCl telles que :

- Ils sont capables de jouer un rôle de solvant à température ambiante.
- Ils possèdent de fortes interactions intermoléculaires [ion-ion] inexistantes pour les autres sels fondus à hautes température.
- La plupart d'entre eux sont liquides à température ambiante.

Les liquides ioniques sont constitués d'un cation organique, associé à un anion organique ou inorganique de taille variable les combinaisons cations/anions possibles sont très nombreuses (>106) et en constante évolution. . Les cations les plus couramment utilisés sont généralement volumineux et dissymétriques.

Les plus classiques sont des ammoniums ou phosphoniums quaternaires mais de nombreux liquides ioniques sont à base de systèmes hétéroaromatiques. les plus étudiés sont les sels d'imidazoliums diversement substitués sur les atomes d'azote et de carbone .(R. Hagiwara.2000 ,F. Endres .2006)

I.2)Histoires des différentsliquides ioniques :

En 1997 karlheinzinger seul est travailler sur les simulations de dynamique moléculaire d'un lithium et d'un ion iodure à proximité d'une interface eau-platine et d'une interface eau-mercure liquide ont été effectuées où les potentiels ion-métal et eau-métal sont dérivés de calculs abinitio d'un ion ou d'une molécule d'eau et d'un amas de métal composé de cinq à dix atomes. Le modèle flexible de l'eau HJH et un potentiel mercure-mercure dérivé de la théorie pseudopotentielle sont utilisés. Les autres potentiels sont basés sur des calculs ab initio. Les propriétés structurales aux interfaces sont décrites par l'ion. oxygène. hydrogène. et les profils de densité de mercure et les fonctions de distribution radiales ion-oxygène, ion-hydrogène et ion-inercure. Le potentiel mercure-mercure permet d'analyser les réarrangements induits par les ions des atomes de mercure en surface. Les densités spectrales des mouvements de translation gênés des ions parallèles et perpendiculaires aux deux surfaces sont rapportées.

En 1999 Institut de physique et de mathématiques appliquées et Université d'État de l'Oural(V.M Zhukovsky) et all ils sont travailler sur Les propriétés conductrices des électrolytes polymères solides (SPE) à base de copolymère acrylonitrile (avec 93% en poids d'unités acrylonitrile) et LiClO_4 ont été étudiées par une impédance complexe et des techniques patentionsstatiques. Les résultats indiquent l'existence d'une région de concentration hautement conductrice ioniquement proche de la limite de solubilité du sel. La formation d'une structure ionique favorable au transport rapide des ions Li est principalement régie par les facteurs suivants: absence de solvant résiduel de faible poids moléculaire (illustré par les mesures de conductivité et de nombres de transport du lithium) et l'influence de la température (enquêtes de spectroscopie IR).

Chapitre I Liquide ionique

En 2000 Max Tishler (Laboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, Wesleyan University (Wei Ou) et all) ont pratiqué sur la cyclohexanone oxime (le précurseur de la fabrication d' ϵ -caprolactame) est facilement préparée à partir de cyclohexanone en utilisant de l'hydroxylamine aqueuse dans des liquides ioniques.[19]

En 2004 Yanlong Gu (Center for Green Chemistry, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China) et all ont traité les réactions d'addition d'acides aliphatiques avec des oléfines pour donner des esters correspondants ont été étudiées en utilisant des liquides ioniques fonctionnalisés SO₃H comme double catalyseur-solvant. L'isolement des produits souhaités pourrait être réalisé par simple décantation et les liquides ioniques pourraient être réutilisés en continu après séchage sous vide (5–12 mmHg) à env. 80 ° C.[20]

En Septembre 2005 (Naomi Nishimura et all) préparons Brins d'ADN volés avec un fragment liquide ionique

Un domaine liquide ionique a été préparé avec succès en dehors de l'ADN double brin en fixant les cations 1-alkyl-3-méthyl-imidazolium (C_nMI) sur les groupes phosphate de l'ADN. Tout d'abord, quatre espèces de liquide ionique ont été fabriquées en utilisant l'ester di-n-butylique d'acide phosphorique et le C_nMI (n = 2,4,8 et 12) comme modèle de faible poids moléculaire. Ils ont été obtenus sous forme de sels liquides et leur conductivité ionique allait jusqu'à 10–5 S cm⁻¹ à 50 ° C. Sur la base de cette étude modèle, des contre-cations des groupes phosphate d'ADN ont été échangés contre quatre types de cations imidazolium. L'ADN ionique dérivé du liquide résultant (ADN dérivé de l'IL) était soluble dans les solvants organiques ordinaires tels que le méthanol ou l'éthanol. La conductivité ionique était faible, car la densité ionique était insuffisante pour former un domaine liquide ionique continu autour des brins

Chapitre I Liquide ionique

d'ADN. Lorsque 11% en mole de tétrafluoroborate de 1-éthyl-3-méthylimidazolium (EMIBF₄), qui est un liquide ionique typique, a été mélangé avec l'ADN robiné par l'IL, une conductivité ionique de $5,4 \times 10^{-5} \text{ S cm}^{-1}$ à 30 ° C a été observé car un domaine liquide ionique continu a été formé avec succès.[12]

En Septembre 2009 (Salman M et all) préparons Nouveaux liquides ioniques à température ambiante aux propriétés écotoxicologiques et antimicrobiennes intéressantes

Un nouvel ensemble de liquides ioniques à température ambiante (RTIL), sels de tétrabutylammonium (TBA): formiate, acétate, propionate, butyrate, benzoate, nitrobenzoate, cinnamate, salicylate, sulfanilate, linoléate et oléate, ont été préparés par neutralisation de l'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBA OH) et l'acide correspondant. Les composés ont montré des propriétés chimiques et biologiques intéressantes. Ils sont solubles dans l'eau et les solvants organiques produisant des solutions conductrices et sont efficaces contre certaines bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Notamment, ils ont affecté certaines protéines telles que l'albumine sérique bovine (BSA) et la catalase (CAT) comme déduit en suivant les spectres d'émission de fluorescence.

En November2012 (JohnGräsvik et all) étudiant Liquides ioniques sans halogène et leur utilisation comme solvants celluloses

Ce travail démontre une nouvelle voie de synthèse vers des liquides ioniques sans halogène. Une voie de réaction synthétique à un pot évitant l'utilisation d'halogénures d'alkyle toxiques et à haute énergie a été développée pour réduire l'impact environnemental du processus de synthèse des liquides ioniques. Cependant, l'élimination des halogènes et des halogénures d'alkyle dans la préparation des liquides ioniques n'est pas seulement un problème environnemental: les espèces susmentionnées sont également parmi les

Chapitre I Liquide ionique

contaminants les plus courants et persistants dans les liquides ioniques (IL) d'aujourd'hui. Les IL préparés ont été conçus pour dissoudre la cellulose, dont une partie a été incluse dans une étude de dissolution de la cellulose à l'aide d'une cellulose au sulfite de la société Domsjö.

En Mars 2015 (YingLiu et all) étudiant Effets de la composition du catalyseur sur l'alkylation isobutane / 2-butène catalysée par un liquide ionique On a étudié l'alkylation isobutane / 2-butène catalysée par un liquide ionique modifiée avec des composés métalliques. L'effet de la composition du catalyseur sur la sélectivité d'alkylation a été étudié. Les spectres RMN ^{27}Al , ESI-MS et FTIR révèlent que la sélectivité catalytique du liquide ionique modifié est probablement déterminée par la composition du catalyseur plutôt que par la force de l'acide. La complexation du métal de transition avec le 2-butène peut augmenter le rapport interne isobutane / oléfine de la charge pendant la réaction d'alkylation, ce qui se traduit par une meilleure sélectivité du liquide ionique modifié. Les meilleurs catalyseurs liquides ioniques étaient ceux contenant des complexes CuAlCl_4 , donnant l'alkylate avec 87,5% en poids de triméthylpentanes et un indice d'octane de recherche (RON) calculé de 100,5.

En Octobre 2019 (Ali NiyaziDuman et all) étudiant la Synthèse de nouveaux liquides ioniques hydrosolubles et de leur profil antibactérien contre les bactéries gram-positives et gram-négatives

Une série de sels de bromure d'imidazolium (NIM-Br 1a, 1b et 1c) portant différentes longueurs de chaînes alkyle ont été synthétisées et leurs activités antibactériennes in vitro ont été déterminées en mesurant les valeurs de concentration minimale inhibitrice pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*. De plus, ces dérivés d'imidazolium ont également été évalués par rapport au biofilm produit par ces souches bactériennes. Tous les composés se sont révélés efficaces contre les

Chapitre I Liquide ionique

bactéries Gram-positives et Gram-négatives, et également plus efficaces sur la production de biofilm de *S. aureus* que les autres.[28]

En December 2019 les liquides ioniques ont montré un potentiel pour des applications en tant qu'antimicrobiens. Leur activité antimicrobienne s'est avérée plus élevée contre les bactéries Gram-positives que contre les bactéries Gram-négatives, ce qui suggère un rôle protecteur pour la membrane externe des micro-organismes Gram-négatifs. La colistine est un antibiotique de dernier recours souvent utilisé pour traiter les infections causées par des bactéries Gram-négatives multi-résistantes. La colistine interagit avec le lipopolysaccharide bactérien, modifiant ainsi la structure et augmentant la perméabilité de la membrane externe. Le but de cette étude était d'étudier l'interaction entre la colistine et les liquides ioniques bromure de 1-méthyl-3-dodécylimidazolium, bromure , 1-dodécyl-1-méthylpyrrolidinium et bromure de 1-dodécyl-1-méthylpipéridinium contre les bactéries Gram-négatives de la clinique importance comme *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacterbaumannii*.

En Mars 2020 quatre liquides ioniques d'halogénure de 1-butyl-3-méthylimidazolium ont été synthétisés par métathèse et réactions d'échange d'anions. Des colloïdes de nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été synthétisés dans quatre liquides ioniques dans le réacteur pressurisé par réduction du nitrate d'argent avec de l'hydrogène gazeux, sans ajout de solvants ni d'agents stabilisants. Les activités antibactériennes des liquides ioniques de base et des colloïdes AgNPs dans les liquides ioniques ont été examinées par une méthode de diffusion en puits pour les bactéries Gram-positives *Bacillus cereus* (NCIM-2155) et Gram-négatives *Escherichia coli* (NCIM-2931). On a observé que les activités antibactériennes des liquides ioniques et des colloïdes AgNPs dans les liquides ioniques étaient contrôlées par les anions de liquides ioniques et la taille des particules AgNPs. Le liquide ionique d'iodure de 1-butyl-3-

Chapitre I Liquide ionique

méthylimidazolium présentait des activités antibactériennes plus élevées parmi les liquides ioniques étudiés. En outre, la présence d'AgNPs dans l'iodure de 1-butyl-3-méthylimidazolium, liquide ionique, a amélioré son activité antibactérienne pour les bactéries *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*.

En Septembre 2020 la biomasse lignocellulosique est une ressource renouvelable prometteuse pour la production de biocarburants et de produits chimiques de plate-forme. La présente étude englobe le criblage et l'isolement de bactéries lactiques (LAB), stables en présence de liquides ioniques ([EMIM] [OAc], [BMIM] [MeSO₄] et [BMIM] [Cl]) et d'inhibiteurs lignocellulosiques (HMF et furfural), et les explore pour une production efficace d'acide lactique biosourcé. Dix-neuf isolats producteurs de LAB ont été identifiés sur la base de leur analyse morphologique, biochimique et de la séquence de l'ARNr 16S. Parmi ces cinq souches LAB, à savoir *P. pentosaceus* SKL-7, *L. fallax* SKL-15, *L. plantarum* SKL-19, *L. paracasei* SKL-21 et *L. plantarum* SKL-22 ont bien poussé en présence d'IL [EMIM] [OAc], [BMIM] [MeSO₄] et [BMIM] [Cl]. Le *L. plantarum* SKL-22 a présenté une tolérance relativement élevée avec des taux de croissance spécifiques les plus élevés en présence de 0,5% et 1% [BMIM] [MeSO₄] et [BMIM] [Cl]. Dans l'ensemble, *L. plantarum* SKL-22 a produit une quantité raisonnable d'acide lactique 34,26 g / l. Il s'agit d'une souche prometteuse pour la production en un seul pot d'acide lactique à partir de biomasse lignocellulosique.

I.3) Propriétés physico-chimiques des liquides ionique :

Les liquides ioniques se sont récemment ajoutés à la gamme des composés potentiellement utilisables en tant que solvants de réaction et présentent un grand intérêt du fait de leurs propriétés physico-chimiques particulières.

Chapitre I Liquide ionique

I.3.1) Le point de fusion :

Le critère clé pour l'évaluation d'un liquide ionique est, par définition, son point de fusion. Un sel fondu est défini liquide ionique lorsque son point de fusion est inférieur à 100°C. Le point de fusion est difficile à corrélérer avec la composition chimique. Les principaux facteurs qui influencent le point de fusion des liquides ioniques sont : la distribution de charge sur les ions, la possibilité de liaisons hydrogène, la symétrie des ions et les interactions de Van der Waals(P.J. Dyson, 2005).[98]

I.3.2)La densité :

La densité La plupart des liquides ioniques présente des densités entre 1,2 et 1,5 (à 25°C). Ainsi dans le cadre de l'extraction liquide-liquide, la phase liquide ionique va-t-elle se situer généralement en dessous car sa densité est supérieure à celle de l'eau ou d'une solution aqueuse acide (M. Naceur Rabie,2013) .[10]

La densité des liquides ioniques de la classe 1,3 dialkylimidazolium à température ambiante est en général plus grande que celle de l'eau (0,9 à 1,6 g.cm⁻³). les liquides ioniques hydrophiles qu'hydrophobes, elle diminue presque linéairement avec la longueur de la chaîne alkyle du cation (K. N. Marsh et al,2004) .]. De plus, il est à noter que l'augmentation de la teneur en eau provoque une diminution de la densité (J. G. Huddleston et al,2001) .[74]

I.3.3)La viscosité :

Les liquides ioniques sont des liquides très visqueux, environ deux ordres de grandeur de plus que l'eau ou les solvants organiques classiques (Ohno, H., 2005) . La viscosité des liquides ioniques est déterminée essentiellement par leur tendance à former des liaisons hydrogènes et par la force des interactions de Van der Waals(S. Chun et al, 2001) . En effet, la viscosité d'un liquide ionique

Chapitre I Liquide ionique

augmente avec l'allongement de la chaîne alkyle et ce pour un même anion. La délocalisation de la charge sur l'anion semble favoriser une viscosité faible par l'affaiblissement de la liaison hydrogène avec le cation (C. Chiappe, 2005), L'augmentation de la teneur en eau a pour effet la diminution très importante de la viscosité.

I.3.4) La Conductivité électrique :

Les liquides ioniques présentent une grande conductivité ionique, généralement de l'ordre de 10^{-1} S.m^{-1} . Il apparaît que la viscosité n'est pas le seul paramètre ayant une influence sur la valeur de la conductivité : il faut aussi prendre en considération la taille et la masse moléculaire des ions, qui ont également un effet important (Barbara Kirchner.2009) .[40]

Chapitre II

Les maladies d'abeille

II.1) Généralités sur les abeilles :

Parmi 20 000 espèces d'abeilles présentes dans le monde, l'abeille domestique *Apis mellifera* est la plus répandue et celle que l'on connaît le mieux (Mollier et al., 2009) du fait de ses grandes potentialités pour la récolte du miel (Le conte et Navagas, 2008). vivant en colonies pouvant comprendre jusqu'à 50 000 individus. Celle-ci étant caractérisée par la division et la spécialisation du travail. Le rôle dans la pollinisation est d'une importance majeure pour l'agriculture : un tiers de la nourriture consommée dans le monde en 2005 dépendait de cette activité (Nicolas, 2011).

L'abeille mellifique vit au sein d'une colonie qui comprend trois castes: la reine, la seule à assurer la reproduction, les faux-bourdon fécondent la reine et chauffent la ruche et enfin les ouvrières organisées selon leur fonction et leur âge (Ravazzi, 2003). [104]

II.2) Systématique (Classification) :

Le genre *Apis*, comprenant plusieurs espèces d'abeilles, appartient à l'ordre des Hyménoptères (Ravazzi, 2003). [104]

Règne :Animalia.
Embranchement :Arthropoda.
Sous embranchement : Antennata.
Classe :Insecta.
Ordre : Hymenoptera.
Sous ordre :Apocrita.
Super famille :Apoidea.
Famille :Apidae.
Sous famille : Apinae.
Genre :Apis.

II. 3) Morphologie de l'abeille :

L'abeille est couverte d'un squelette externe, aussi appelé exosquelette. Il confère à l'insecte sa rigidité et permet l'ancrage des muscles. Il la protège des intempéries et des prédateurs. Selon (Jeanne 1998 ; Alleaume 2012) L'abeille est un insecte qui porte 3 paires de pattes et 2 paires d'ailes. Voyez en détails sa tête, son thorax et son abdomen (figure 1).

La tête porte : les pièces buccales, les glandes associées et les pièces sensibles majeures: les yeux, les antennes et les poils sensitifs .le cerveau et la partie antérieure de tube digestif.

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

L'abdomen « ventre » renferme de nombreux organes dont la plus grande partie de l'appareil digestif, l'appareil reproducteur et, chez les femelles (reine et ouvrières), l'appareil venimeux. L'abdomen est généralement velu. Il comporte 7 segments visibles et contient les organes internes ainsi que le dard. Deux segments supplémentaires peuvent être trouvés (avec l'aiguillon ou les organes reproducteurs) mais ils sont très petits. Chaque segment comporte une plaque dorsale et une plaque ventrale reliées par des membranes. Ceci permet l'expansion de l'abdomen quand l'abeille s'est gorgée de miel, de nectar ou d'eau. Dans l'abdomen, on retrouve:

-la plupart des organes

-quelques glandes

-l'aiguillon à l'extrémité

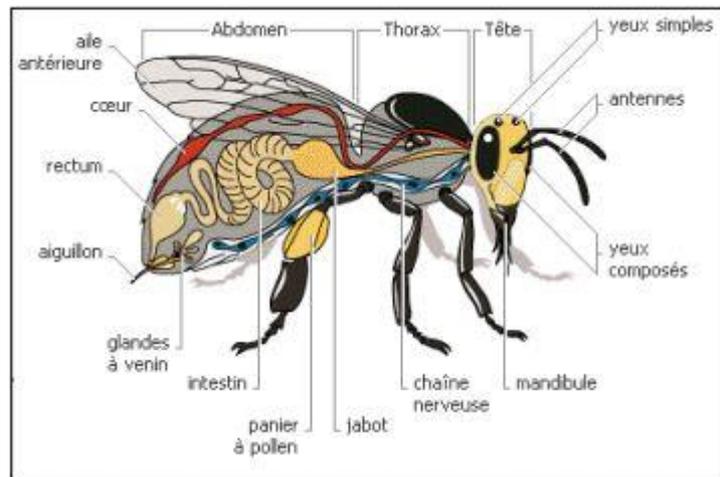


Figure 01: Morphologie de l'abeille (Hannebelle, 2010).[70]

II.4) Les effets des facteurs environnementaux sur les abeilles :

Les effets environnementaux sont dus à deux facteurs ; d'une part aux ressources alimentaires et d'autre part aux conditions climatiques ; lors de la consultation des apiculteurs ; les apiculteurs pointent souvent du doigt les mauvaises conditions climatiques allusion faite au froid et aux pluies ; ces facteurs empêchent les abeilles de sortir pour stocker de la nourriture.

En 2011, la miellée est tardive et l'hiver rigoureux a provoqué des mortalités hivernales dans les ruches de quelques apiculteurs. La dégradation de l'environnement conduit à un manque de disponibilité en plantes à pollen et mellifères et donc à une pénurie de nourriture pour les abeilles. Or les carences alimentaires augmentent la sensibilité des abeilles aux insecticides (WAHL et ULM, 1983). Selon FRIES (1995) lorsqu'il y a peu de pollen, source de protéines, dans la ruche, cette situation favorise le développement de maladies.

II.5) Les maladies d'abeille :

II.5 .1) La loque américaine :

En 1769, le naturaliste SCHIRACH, attribua différentes origines à la loque américaine : mauvaise ponte de la reine, mauvaise position de la larve. C'est en 1885 que fut soupçonnée par CHESHIRE et CHEYNE la nature bactérienne de l'agent de la loque américaine (FAUCON, 1992). [16]

La maladie a été nommée loque américaine, parce que les premières investigations ont été faites dans l'Etat de New York (HEYNDRICK et al., 1996). Ensuite la bactérie a été classifiée sous le nom de *Paenibacillus larvaesplarae* (ASHIRALIEVA et GENERSCH, 2006). La loque américaine est une maladie infectieuse et contagieuse du couvain operculé de l'abeille, due à la bactérie *Paenibacillus larvae*. Maladie redoutable, sa dissémination est souvent liée aux (mauvaises) pratiques apicoles. En France, la loque américaine est un danger sanitaire de 1ère catégorie, Cette maladie a pour effet d'affaiblir et dans la plupart des cas, de tuer une colonie d'abeilles mellifères. De plus, la loque américaine contamine le matériel apicole qu'on doit ensuite détruire afin d'éviter que d'autres colonies ne soient touchées par la maladie. Il est impossible d'éliminer la loque américaine. Les apiculteurs doivent se contenter de prendre les mesures nécessaires pour prévenir une infection dans leur exploitation apicole. (A. Ballis ,2016) [23]

II.5 .1.1) Agent causal :

Paenibacillus larvaesubsp. Larvae est un bacille gram positif, de la forme d'un bâtonnet droit ou légèrement incurvé de 1,5 à 6 µm de long et environ 0,5 µm de large. (ALIPPI et al., 2004). Le bacille est mobile grâce à la présence de trente à trente-cinq cils vibratiles. Cette forme végétative peut se transformer en forme de résistance, la spore qui est fusiforme dépourvue de cils et qui ne fait

Chapitre III Les maladies d'abeille

plus que 1,1 à 1,9 cm de long pour 0,4 à 0,7 cm de large (GENERSCH et al., 2005).[60]

II.5.1.2) Pathogénie :

La gravité de la maladie provient du caractère contagieux et de la difficulté à se débarrasser des spores de *Paenibacillus larvae* (forme de résistance de la bactérie). Les larves d'abeilles sont infectées par voie orale les spores ingérées arrivent au niveau du tube digestif d'une larve d'abeille et germent dans l'intestin après 12 heures (YUE et al., 2008) . Ces spores peuvent rester infectieuses plusieurs années et sont très résistantes à la chaleur, aux agents chimiques, aux intempéries et aux antibiotiques (OIE, 2016a). *P. larvae* se classe en quatre différents génotypes, nommés ERIC I, II, III et IV (Genersch et al, 2006). Ces génotypes présentent des morphologies, métabolisme du carbone et degrés de virulence différents.[64] [119]

Après la destruction des tissus, la bactérie franchit la barrière intestinale et se multiplie dans l'hémolymphe provoquant une septicémie et la mort de la larve. Les larves sont les plus vulnérables à l'infection au cours des premiers stades larvaires, c'est-à-dire 12-36 h après l'éclosion des œufs (BRODSGARD et al, 2000; GENERSCH et al, 2005).[43] [60]

La larve ingère les spores dans la nourriture contaminée servie par les abeilles nourrices, ou les spores qui se trouvaient déjà au fond de la cellule suite à l'infection de la larve précédente. L'infection se produit d'abord dans les intestins puis, en formant une brèche dans l'épithélium, s'étend à tous les tissus (Genersch, 2010). Ce stage septique cause la mort de la larve .[62]

II.5 .1.3) Symptômes :

Les symptômes de la maladie s'observent sur le couvain operculé dont les opercules sont affaissées et percées. Les larves mortes qu'il contient sont filantes

Chapitre III Les maladies d'abeille

ou desséchées sous forme d'écailles et il se dégage une forte odeur d'ammoniac. Lors de l'examinassions d'un cadre de couvain, on constate que l'opéculation du cadre n'est pas homogène et qu'il ya de nombreuses cellules désoperculées avec une répartition irrégulière. Dans les cellules désoperculées on trouve des larves à plusieurs stades. C'est un couvain en mosaïque (FERNANDEZ et COINEAU, 2007) .La croissance de la bactérie sur le cadavre relâche des gaz à l'intérieur de la cellule operculée, et la larve devient visqueuse. Graduellement, elle s'assèche et forme une écaille dure et brune accolée à la paroi du bas de la cellule. Ces écailles contiennent des millions de spores et sont une source d'infection à l'intérieur et entre les colonies (Genersch, 2010).[57][63]



Figure 02 : (Anonyme 2012) :Cadre atteint de loque Américaine

II.5 .1.4)Cycle biologique La bactérie Paenibacilluslarvae est présente sous deux formes :

la forme végétative (ou germinative) qui exploite les ressources nutritives de son milieu de développement et de multiplication.

la forme sporulée, en « dormance », particulièrement résistante dans le milieu.

Chapitre III Les maladies d'abeille

Concernant la résistance des spores, il a été montré qu'elles peuvent résister 35 à 40 ans dans le milieu extérieur sous forme d'écailles, plus d'un an dans le miel, et pendant 8 heures à 100°C de chaleur sèche. En revanche, elles sont détruites avec de l'eau de javel à 1,5%, ou en 30 mn à 130°C de chaleur sèche. Il est impossible de désinfecter efficacement la cire d'abeille sans la rendre inutilisable (Vidal-Naquet, 2015).

II.5 .1.5) transmissions de la maladie :

De mauvaises pratiques zootechniques, lors de la formation d'essaims ou de regroupements de ruches ou de ruchers est un facteur majeur de propagation de la maladie entre les colonies. Le transfert de cadres, de hausses ou de cires non désinfectés permet la transmission de la maladie, les spores étant très résistantes dans le milieu extérieur.

La contamination peut aussi se faire par apport alimentaire avec du miel ou du pollen contaminé par des spores de loques (Vidal-Naquet, 2015).

Les spores sont les éléments de résistance et de contamination de la maladie. Elles peuvent être introduites dans une colonie à la faveur de dérive, pillage ou manipulations apicoles. Elles sont présentes dans tous

les éléments de la ruche (miel, pollen, couvain, abeilles, cadavres, cadres...) et sur le matériel en contact avec la colonie atteinte. Elles gardent leur pouvoir infectant très longtemps. Les spores ingérées arrivent au niveau du tube digestif d'une larve d'abeille et germent dans l'intestin après 12 heures (YUE et al., 2008) . Après la destruction des tissus, la bactérie franchit la barrière intestinale et se multiplie dans l'hémolymphe provoquant une septicémie et la mort de la larve. Les larves sont les plus vulnérables à l'infection au cours des premiers stades larvaires, c'est-à-dire 12-36 h après l'éclosion des œufs (BRODSGAARD et al, 2000; GENERSCH et al, 2005). Les abeilles adultes ne

Chapitre III Les maladies d'abeille

sont pas infectées lors de l'ingestion de spores de la bactérie (WILSON, 1971).[117]

La propagation de la maladie se fait par les abeilles, en particulier les nourrices qui contaminent les jeunes larves, dans leurs deux premiers jours de vie, avec des gelées nourricières contenant des spores.

Le tableau 2 résume les modes de transmission de la bactérie *Paenibacilluslarvae* à l'intérieur de la colonie et entre colonies (LINDSTROM et al., 2008)[87]

Tableau 1- Mode de transmission de *Paenibacilluslarvae* à l'intérieur de la colonie et entre colonies (LINDSTROM et al, 2008).[87]

	Horizontal	Vertical
A l'intérieur de la colonie	- De l'ouvrière au couvain, à l'ouvrière ou au mâle - Du mâle à l'ouvrière ou au mâle	- De la reine à la fille (ouvrière) - De la reine à la fille (reine) - De la reine au fils (mâle)
Entre colonies	- De l'ouvrière à l'ouvrière ou au mâle - De mâle à l'ouvrière ou au mâle (dérive, pillage)	- Essaimage

II.5 .1.6)Techniques de diagnostic :

Les techniques incluent la caractérisation microbiologique, biochimique et l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) (HAYNES, 1972 ;NEUENDORF *et al.*, 2004). Le diagnostic de la loque américaine est basé uniquement sur l'identification de l'agent pathogène. Des méthodes

d'identification nécessitent une étape préalable de culture, tandis que d'autres peuvent être réalisées directement sur les prélèvements (MURRAY et ARONSTEIN, 2008).[67][91]

II.5 .1.7) La distribution :

Ce type de maladie se retrouve partout dans le monde :(Depuis quelques années, des souches de *Paenibacillus larvae* résistantes à l'OTC sont apparues dans plusieurs pays dans le monde. (COUGOULE N., 2008)[17]

Seules quelques régions du monde semblent indemnes comme l'Afrique subsaharienne et l'Inde. Il existerait également des souches d'abeilles résistantes à la loque américaine. (JOYEN. ,2013)[08]

La loque américaine est très présente en Algérie. Les symptômes cliniques de la loque américaine ont été observés dans environ 20 % des ruchers étudiés au niveau de 5 régions Selon une étude réalisée par ADJLANE et al. (2012). Des diagnostics de laboratoire ont été effectués sur des échantillons d'abeilles adultes prélevés. Dans les cinq zones étudiées celles de Tizi-Ouzou, de Blida, de BOUMERDASE, d'Alger et de Tipaza, Les résultats ont mis en évidence la présence de 45 % d'abeilles infectées par l'agent causal de la loque américaine (*Paenibacillus larvae*) .et différence significative entre les taux de contamination de la bactérie .la zone qui a obtenu la fréquence la plus élevée de contamination est boumerdése égale à 40% ,%, suivie par celle de TiziOuzou avec 35 %. Dans les autres régions les fréquences d'occurrence (F.O. %) sont plus basses comme à Alger (F.O. % = 22 %), et Tipaza (F.O. % = 20 %), et finalement la région de blida enregistre la fréquence la plus faible avec un taux de contamination de 17%.(figure 3.4.5)[01]

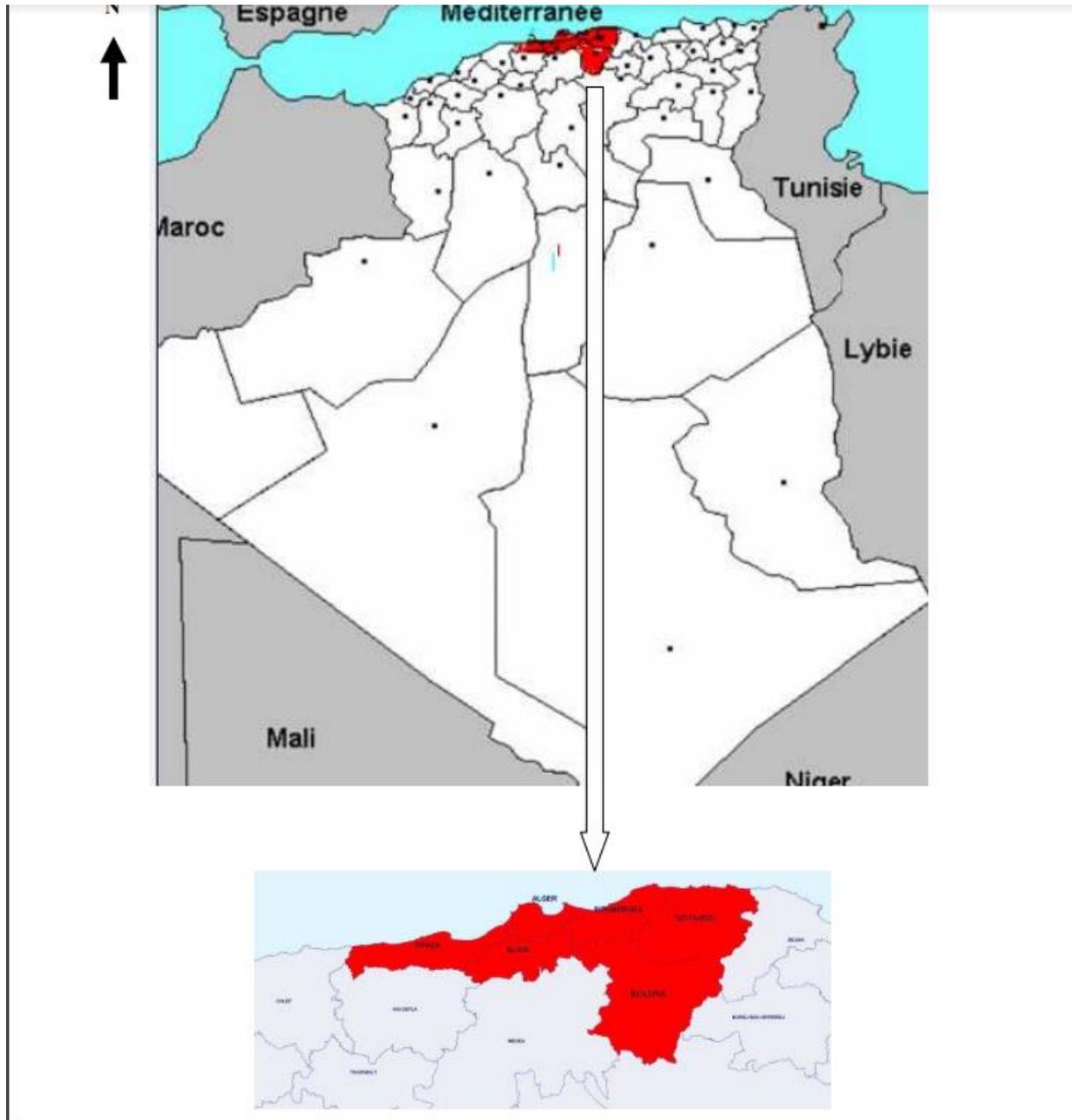


Figure 3 : Zone d'étude (région médio-septentrionale de l'Algérie) Echelle : 1/10.000.000 (ADJLANE., 2012)[01]

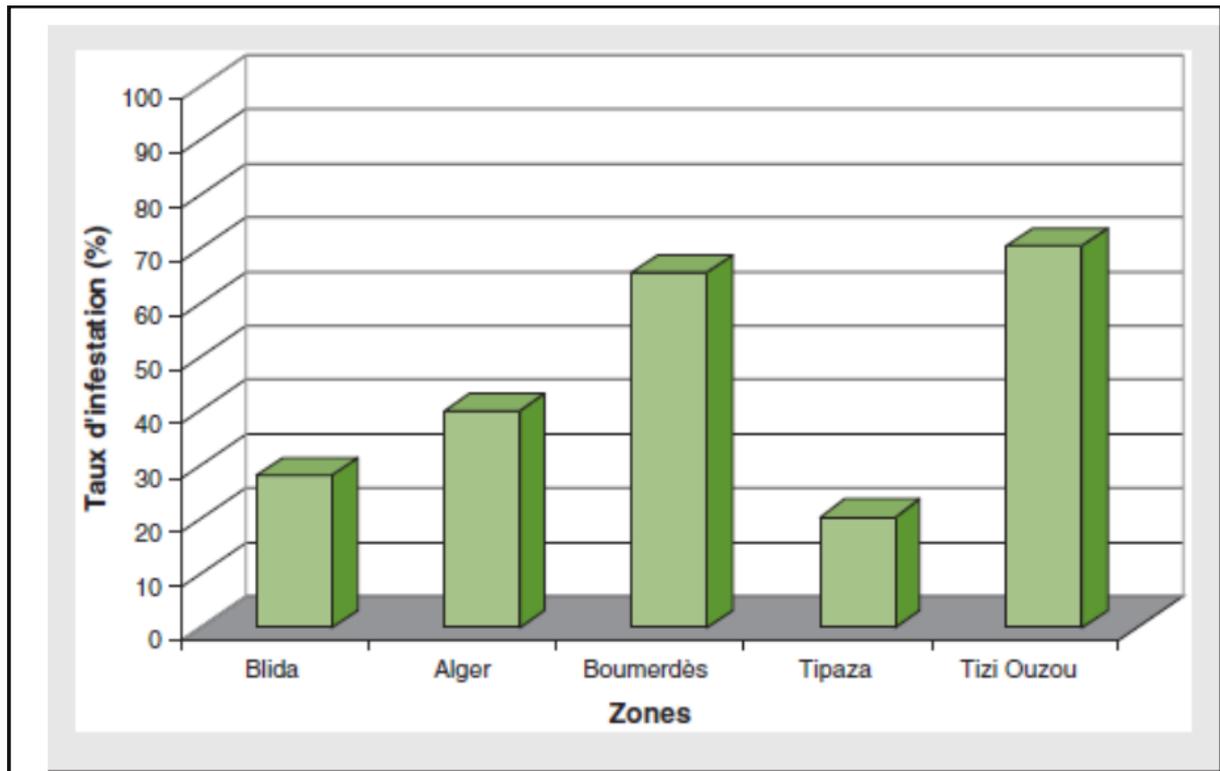


Figure 04 : Prévalence de la loque américaine dans les cinq zones étudiées de l'Algérie (ADJLANE et al.,2012)[02]

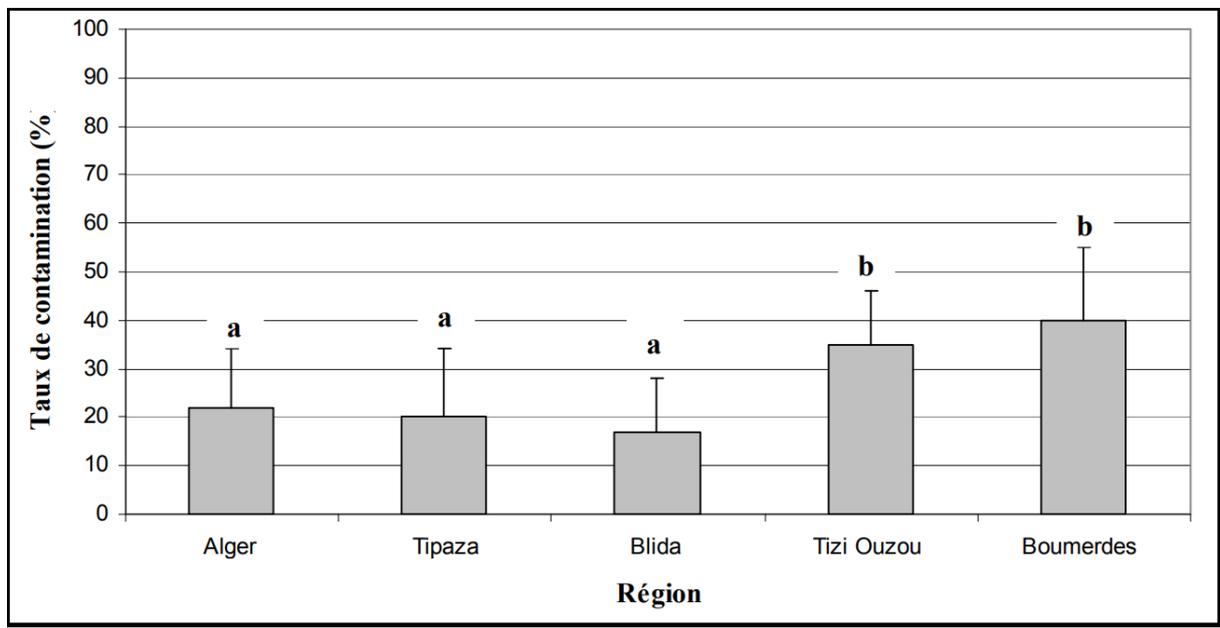


Figure05 :taux de contamination dans les cinq région en Algérie

(ADJLANE et al.,2012)[02]

II.5.1.8) Virulence de la loque américaine :

Tout lecteur connaît la virulence et la forte contagiosité des loques. L'agent pathogène de la loque américaine, *Paenibacillus larvae* en particulier, est une bactérie formant des spores extrêmement résistantes aux antibiotiques, à la chaleur et aux désinfectants classiques. Une spore peut rester viable pendant des décennies. (Trouiller J.2004)(113]

la loque américaine peut être confondue avec d'autres maladies du couvain fermé comme le couvain sacciforme, la mycose (ascosphérose), la varroose mais dans tous ces cas les immatures morts ne sont pas adhérents et pas filants (parfois un peu avec le couvain sacciforme) et sans odeur particulière. La confusion avec la loque européenne est aussi possible: dans cette maladie les immatures atteints meurent avant (en majorité) ou après l'operculation, mais ils ne sont ni filants (ou très peu) ni adhérents. (AISSAT et al.,2017) .

Plusieurs pathologies s'attaquent à la santé des abeilles comme la loque américaine et l'ascosphérose. Toutes deux très contagieuses, elles sont dues à des bactéries qui se développent dans le couvain. La loque américaine est la plus dangereuse. Elle affaiblit la colonie jusqu'à l'anéantir (SHIMANUKI ET KNOX, 1988).[15]

C'est la maladie la plus contagieuse du couvain, elle fait partie des maladies susceptibles de détruire une colonie entière (ALLIPI et al, 2004).[31]

II.5 .1.9) Technique de préparation des abeilles au diagnostic de la loque américaine(isolement de la bactérie) :

II.5 .1.9.1) Prélèvement des échantillons :Recueillir les échantillons d'abeilles adultes à partir des colonies de la ruche

II.5 .1.9.2)Analyse des échantillons :

- Enlever et écraser soigneusement avec la main les intestins d'abeilles
- Placer l'échantillon dans un tube a essai après filtration.
- Ajouter 20 ml de l'eau physiologique.
- Centrifuger le liquide recueillis dans une centrifugeuse de tube de 50 ml pendant 10 minutes.
- Remettre le culot récupéré en suspension dans un12ml de Nacl stérile (13g /1litre)
- Incuber à 85°c dans un bain marie pendant 10 minutes.
- Inoculer 10 µl de la suspension dans des plaques de MYPGP-agar
- Incuber les plaques dans 5% de co2 (pour stimuler la croissance de la bactérie recherchée) à 36° c pendant sept jours.
- Identifier l'agent causal *Paenibacilluslarvaepar* : La colonie, la morphologie, et le test de catalase. (ADJLANE Nouredine,2012)[02]

II.5 .1.10)La lutte contre la loque américaine :

Pour protéger la ruche contre la loque américaine, les apiculteurs devraient isoler la ruche infectée des ruches saines et choisir des colonies vitales et puissantes,La résistance vis-à-vis de la loque américaineest héréditaire et répond

à une sélection artificielle des abeilles avec un comportement hygiénique intense. Le comportement hygiénique est défini selon (SPIVAK et REUTER, 2001) comme étant la capacité des abeilles à reconnaître, désoperculer et éliminer les larves ou nymphes mortes ou malades. [107]

II.5.1.11) Traitement :

Le traitement de cette maladie dépend de son stade de développement dans la colonie. Une colonie très infestée sera obligatoirement détruite par le feu. Une colonie contenant quelques cellules loqueuses pourra être traitée par un antibiotique. La présence des spores nécessitera de transvaser les abeilles dans une autre ruche saine, de les traiter aux antibiotiques et de brûler les cadres de la ruche malade. (MIYAGI *et al*, 1999) [90]

La destruction de la colonie infectée est la solution la plus sûre d'élimination de l'agent causal. Elle permet d'éviter la propagation du bacille aux autres ruches.

L'utilisation d'antibiotiques n'est pas interdite, mais peut s'inscrire dans le cadre de la réglementation sur la cascade et des limites maximales de résidus. La tétracycline et l'oxytétracycline ont été utilisés dans ce cadre, mais ont conduit à l'apparition de souches résistantes à ces antibiotiques aux Etats-Unis et au Canada. Des recherches ont également montré l'efficacité de certains macrolides sur ces bactéries (Alippi *et al*, 2014). [29]

Un traitement à la tétracycline peut également être envisagé en complément du transvasement, mais il oblige la destruction du miel et ne possède pas une grande efficacité en matière d'éradication du pathogène, car il n'agit que sur la forme végétative de la bactérie et pas sur les spores. Le nettoyage et la désinfection du matériel et des habits de travail est très importante. (Clélia J, 2013) [47]

Mais l'utilisation de telles molécules peut conduire à l'apparition de divers problèmes comme la réapparition de la maladie à l'arrêt du traitement, le mauvais usage des antibiotiques pouvant être à l'origine d'une toxicité pour les abeilles ou être retrouvés dans les produits destinés à la consommation humaine, ou encore l'antibiorésistance (Elzen *et al.*, 2002). [54]

Seules des mesures prophylactiques reposant sur des bonnes pratiques d'élevage permettent de minimiser le risque de contamination : désinfection du matériel, non introduction de produits à risques, observation fréquente des cadres de couvain et bonne gestion des divisions et regroupement d'essaims.

L'utilisation incontrôlée des antibiotiques présente un risque sur les produits de la ruche à travers la présence des résidus (LODESANI *et* COSTA, 2005; MARTEL *et al.*, 2006) [88] [89]

II.6) L'ascosphérose (*Ascosphaera apis*) :

L'ascosphérose des abeilles est un problème grave pour l'apiculteur. Chez les humains, cette maladie est appelée couvée calcaire, car les insectes adultes sont porteurs d'agents pathogènes, mais ne tombent pas malades, et seules les larves sont infectées et meurent. La plupart des champignons associés aux abeilles ne se révèlent pas problématiques pour les apiculteurs. Par contre, l'ascosphérose est la principale mycose qui engendre des inquiétudes.

L'ascosphérose (*Ascosphaera apis*), est un genre de 28 espèces de champignons spécialistes de l'abeille, avec une distribution mondiale dans les régions tempérées et tropicales. Toutes les espèces réalisent leur cycle de vie entier dans des nids d'abeilles (Aronstein K. 2010). L'ascosphérose une maladie fongique communément appelée « mycose », « maladie du couvain plâtré », ou « maladie du couvain calcifié », l'ascosphérose est provoquée par le champignon *Ascosphaera apis*, il est réputé parasiter uniquement les larves de

Chapitre II Les maladies d'abeille

l'abeille européenne (*Apis mellifera*), de l'abeille asiatique (*Apis cerana*) et d'une abeille charpentière (*Xylocopacalifornica*).

L'ascosphérose est rarement responsable d'une mortalité importante allant jusqu'à la perte de colonies, mais perturbe fréquemment le développement de ces dernières, ce qui se traduit par une perte économique importante pour l'apiculteur. Il ne s'agit pas d'une maladie réglementée. (Hugo, 2019). [71]

II.6.1) L'agent causal de l'ascosphérose :

Ascospaera apis est appelée aussi couvain calcifié, est un champignon filamenteux de la famille des Ascomycètes qui constituent une vaste division de champignons. Les Ascomycètes se caractérisent par la formation de spores sexuelles, appelées « ascospores », à l'intérieur d'organes particuliers, les asques. Les filaments, ou hyphes, de cette espèce fongique sont segmentés et mesurent autour de 5 µm en diamètre. La ramification des filaments forme un mycélium (Chorbinski P.2003) . [46]

II.6.2) Pathogénicité :

Lorsque les conditions le permettent, notamment lorsque la température du couvain est inférieure à 32°C pendant plus de deux heures (Bailey et Ball, 1991) .les spores d'*Ascospaera apis* germent, le plus souvent dans l'intestin des larves. Le mycélium ainsi formé se développe et provoque la mortalité du couvain. L'ensemble du couvain, ouvert ou fermé, correspondant aux larves d'ouvrières ou de reproducteurs, peut être touché. Les larves sont infectées au stade non operculé et meurent généralement autour de la période d'operculation (Boucher, 2016). L'infection traverse rapidement la muqueuse digestive pour envahir les tissus, à l'aide de diverses enzymes (Theantana et Chantawannakul, 2008). Les larves infectées meurent de lésions mécaniques et enzymatiques, d'une perturbation de la circulation de l'hémolymphe et d'une toxicose générale

Chapitre III Les maladies d'abeille

(Glinski et Buczek, 2003) avant d'être recouvertes d'une épaisse couche de mycélium blanc. Plus tard, la croissance fongique est tachetée de taches brunes ou noires, en raison de la production d'ascmates dont la taille et la couleur peuvent varier (Aronstein et Murray, 2010).[39][41][65]

II.6.3)Symptômes :

L'infection fongique est déterminée visuellement, par la présence dans la ruche de larves et de cellules affectées. Fondamentalement, ils sont situés sur les bords du cadre, plus près du bas. Les abeilles ouvrent les cellules avec les larves mortes, rongent les paupières et nettoient soigneusement l'endroit.

Cependant, malgré des facteurs externes, le diagnostic final est établi dans le laboratoire vétérinaire.



Figure 06 : (Anonyme 2016) Cadre atteint de l'ascosphérose .

II.6.4)transmissions de la maladie :

Les facteurs favorisant la propagation de l'agent pathogène sont :

-la dérive et le pillage

Chapitre III Les maladies d'abeille

- les échanges de cadres contenant des spores entre ruches ;
- la distribution de miel et de pollen contaminé
- les souches sensibles
- l'utilisation d'antibiotique (perturbation de la flore du tube digestif)

Le développement de spores « + » (ou « mâles ») et de spores « - » (ou « femelles) sur la même larve aboutit à la reproduction sexuée du champignon. Plus de 100 millions de spores peuvent être produites par larve contaminée, favorisant la propagation de la maladie au sein de la colonie (Yoderet *al.*,2017).[118]

Les spores fongiques sont introduites dans la colonie par des ouvrières butineuses. La transmission des spores aux larves se fait par le biais de nutriments régurgités.

Les spores sont résistantes dans le milieu naturel pendant environ 15 ans, si bien que l'on considère que les spores sont systématiquement présentes dans l'environnement et dans la ruche, et que le développement de la maladie n'est possible que lorsque des conditions particulières sont réunies (Yoderet *al.*,2017).

La propagation se fait par les spores de ce champignon avec deux voies de contamination. La voie buccale est la plus fréquente, elle se fait par ingestion de la nourriture souillée. Cependant, il y a également la voie transcutanée qui affecte au début l'intestin moyen des abeilles et finit par envahir l'organisme entier (HEATH, 1985).[69]

La germination des spores est favorisée par de fortes variations de température, avec notamment une température basse la nuit, et une humidité importante. Le taux de prévalence de l'ascosphérose est le plus important à la fin du mois d'avril (Boucher, 2016). [41]

Chapitre III Les maladies d'abeille

Les larves de mâles sont plus affectées que les femelles : en effet leur position à la périphérie du cadre les rend plus vulnérables aux variations de température.

L'infection fongique observée chez ces bourdons adultes pourrait avoir été transmise par l'ingestion du pollen d'abeilles domestiques utilisé pour leur élevage. Les auteurs émettent néanmoins aussi l'hypothèse d'une possible transmission du pathogène entre pollinisateurs butinant une même fleur (Wilson M et al.2015)[116]

Lorsque la colonie d'abeilles est pillée, elle se fait la diffusion d'Ascosphérose. L'apparition de cette pathologie est favorisée par une chute brutale de la température et par des conditions d'humidité, ont montré le refroidissement du couvain est une des causes favorisant l'apparition de la maladie. au printemps le développement rapide de la colonie fait l'augmentation du ratio couvain-abeille adulte constitue un risque pour le refroidissement du couvain.Élevée (PEDERSON, 1976; HEARTH, 1982). KOENIG et al (1986)[101][68][81]

II.6.5)La distribution de l'ascosphérose :

Cette maladie est désormais observée dans la plupart des pays du monde et son incidence a tendance à augmenter ces dernières années (Kluser et Peduzzi 2007).[80]

Flores et al (2005) Ils ont fait une étude sur l'ascosphérose .L'expérience a été réalisée en Andalousie

Centre d'Apiculture Biologique (Co'rdoba, Espagne) au printemps et au début de l'été (2002), coïncidant avec la saison apicole.

II.6.6) Virulence de l'ascosphérose :

-Selon une étude réalisée par Cornman et al. (2012) de transcriptomique et Le séquençage du génome d'*Paenibacillus apis* (Qin et al. 2006) ont permis de mettre en évidence de nombreux facteurs de virulence, notamment des gènes codant des chitinases, des protéases et des toxines. [103]

-Un certain nombre de facteurs favorisent l'apparition de la maladie du couvain plâtré, à savoir, l'atteinte des abeilles par d'autres agents pathogènes (*Varroa*, loques, virus) et l'humidité, la

Dans la société d'abeilles il ya pas mal des pathologies comme l'ascosphérose et la loque américaine. L'ascosphérose est une maladie du couvain provoquée par un champignon, *Ascospheera apis* (SPILTOIR, 1955), et également elle est appelée couvain calcifié, couvain dur ou mycose. . Toutes les castes de la colonie peuvent être atteintes (BAMFORD et HEATH, 1989).

L'apparition de cette pathologie est favorisée par une chute brutale de la température et par des conditions d'humidité élevée (PEDERSON, 1976; HEARTH, 1982).) [101][68]

Une publication récente indique que les virus DWV, BQCV et IAPV peuvent infecter et se multiplier chez *Ascospheera apis* (Li et al., 2014b).

D'après Hemmerlé. (2015) *Ascospheera apis*, est réputé parasiter uniquement les larves de l'abeille européenne (*Apis mellifera*), de l'abeille asiatique (*Apis cerana*) et d'une abeille charpentière (*Xylocopa californica*). Il n'existe pas dans la bibliographie disponible de données concernant l'abeille tellienne *Apis mellifera intermissa* ou *Apis mellifera sahariensis*, nos abeilles locales (NDA). Bien que *A. apis* soit rarement responsable de la mort de

Chapitre III Les maladies d'abeille

colonies d'abeilles, le champignon entraîne toutefois d'importantes pertes de larves ce qui impacte forcément le développement des colonies et leur productivité.

Un certain nombre de facteurs favorisent l'apparition de la maladie du couvain plâtré, à savoir, L'atteinte des abeilles par d'autres agents pathogènes (Varroa, loques, virus) et L'humidité, la ventilation insuffisante de la ruche et le climat trop froid pendant le développement de la colonie. (Hemmerlé,. 2015)

Il est également important de signaler que plusieurs souches d'A. apis ont été mises en évidence avec des niveaux de virulence différents (Glinski1982; Lee et al. 2013; Vojvodic et al. 2011).[05][85][114]

Des facteurs biotiques et abiotiques peuvent favoriser le développement du champignon et l'apparition de la maladie. Ainsi, une baisse de température et une humidité importante favorisent la germination des spores et donc la croissance du champignon (ANSES, 2015).[03]

l'ascosphérose n'est pas grave que la loque l'américain, puisque la propagation du champignon au sein d'une colonie est des traitements pharmacologiques et chimiques limités ont prouvé être inefficaces pour le contrôler car ils ne parviennent pas à tuer le spores dans les ruches.(Gilliam.,1993, Heath.,1982)[04][68]

II.6.7)La lutte contre l'ascosphérose :

On ne peut pas combattre la maladie. Dans le cas d'une infestation légère, l'apiculteur doit remplacer la reine et introduire de préférence des reines sélectionnées sur la base du comportement de nettoyage et enlever également les rayons fortement infestés (TABER, 1986). Dans le cas d'une forte infestation, il faut former un essaim artificiel et le mettre dans une ruchette contenant des nouveaux cadres (STACE,1994).[109]

II.6.8) Traitement :

Il n'existe pas de traitement thérapeutique de l'ascosphérose. Seules des mesures prophylactiques ont prouvé leur efficacité. On peut par exemple citer :

Le positionnement de la ruche dans un espace ensoleillé et sec, avec notamment une ouverture orientée vers le sud.

L'étanchéité du toit et une surélévation par apport au sol, de façon à limiter l'introduction de l'humidité, ainsi qu'une inclinaison de la ruche vers l'avant et une bonne aération afin de favoriser l'élimination de l'eau ;

Un renouvellement régulier des anciens cadres, un nettoyage fréquent du plancher de la ruche.

- L'élimination des colonies sévèrement infectées et affaiblies. (Hugo .2019)[71]

Chapitre III

Partie expérimentale

III.1) la synthèse des liquides ioniques :

1^{ère} Partie : le liquide ionique: chlorure 1- (hydroxyéthyl)-3-méthylimidazolium un liquide dicationique

III.1) Synthèses des liquides ioniques, dérivés d'imidazolium(N-alkyl imidazolium)

D'une façon générale, la première étape réactionnelle fait intervenir une réaction de quaternarisation par addition d'un halogénure d'alkyle sur un dérivé imidazole, aboutissant au sel d'halogénure.

III.1.1) Synthèse et caractérisation de chlorure 1-(hydroxyéthyl)-3-méthylimidazolium.[121]

Un mélange équimolaire de 2-chloroéthanol (10 mmol, 0,67 ml) et de 1-méthylimidazole (10 mmol, 0,8 ml) est porté à 120°C (milieu homogène liquide) pendant 24 heures sous vive agitation magnétique

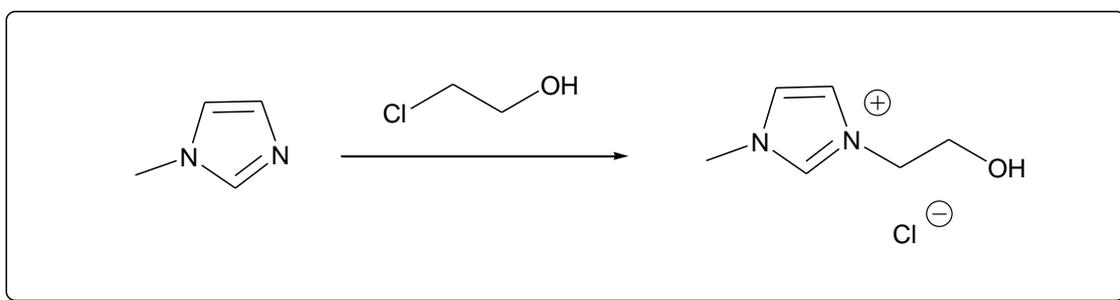


Figure. 7.Réaction de quaternisation



Figure 8 l'iodure de méthylène bis-méthyle imidazolium

2^{ème} Partie : Synthèse le liquide ionique iodure de méthylène bisméthyle imidazolium.

III.1.1) Synthèse du l'iodure de méthylène bis-méthyle imidazolium. [122]

Dans un ballon de 100 ml, le 1-méthyle imidazole (9.07ml, 100 mmol) et le 1-2- di iodométhane (5.07ml, 50 mmol) ont été dissous dans le toluène (15 ml) et le mélange à été agité à 70°C pendant 5 heures. Le mélange réactionnel à été évaporé sous vide et le produit lavé avec l'éther diéthylique (5x 20 ml). L'iodure de méthylène bis-méthyle imidazolium solide jaunâtre (13.20g, 31.86 mmol) a été obtenu avec un rendement de 73%.

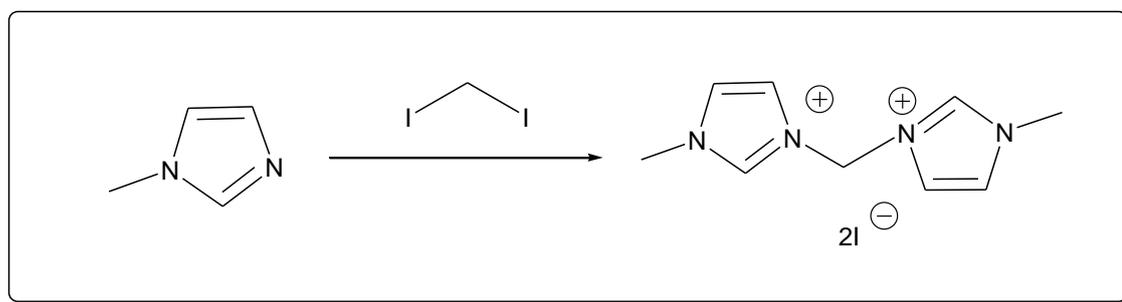


Figure. 9. Réaction de quaternisation



Figure 10 l'iodure de méthylène bis-méthyle imidazolium

La discussion

La discussion

Dans cette étude, nous visons à remplacer les traitements contre certaines maladies de l'abeille, en l'occurrence la loque américaine *Paenibacillus larvae* et l'ascosphérose *Ascosphaera apis*, par l'utilisation des antibiotiques par d'autres produits naturels afin de limiter les résidus sur le miel et d'assurer une meilleure efficacité. Nous avons pu synthétiser deux nouveaux liquides ioniques dans le but de les tester sur les maladies susmentionnées. Malheureusement, l'état sanitaire actuel de notre pays nous a empêché d'effectuer ces tests au niveau de laboratoire.

Les origines de la résistance des bactéries *Paenibacillus larvae*, infectant l'abeille domestique, à la tétracycline ont été étudiées par Evans (2003). Cet auteur signale que la loque américaine a été traitée dans des colonies d'abeilles par un seul antibiotique enregistré, l'oxytétracycline, pendant cinquante ans. Cette pratique a provoqué, récemment, une résistance généralisée à l'oxytétracycline (Evans, 2003). Ainsi, il suggère que, soit la résistance a évolué plusieurs fois chez *Paenibacillus larvae*, soit la résistance implique un transfert horizontal récent via un système non génomique (par ex. plasmide ou transposon conjugal) (Evans, 2003). L'utilisation répétée de ces antibiotiques les rend inefficaces, parce que les bactéries gagnent une résistance au médicament. Afin de limiter la résistance des agents causaux des maladies de l'abeille, nous devons remplacer les antibiotiques par d'autres produits étant naturels.

Plusieurs recherches scientifiques, plus récentes, ont fait l'objet des études des activités biologiques des liquides ioniques. Ils ont trouvé que liquide ionique présente une activité biologique considérable (Ali *et al.*, 2019 ; Virendra *et al.*, 2020). En Octobre 2019, une équipe de recherche (Ali *et al.*, 2019) a réussi à synthétiser des nouveaux liquides ioniques hydrosolubles (imidazolium). Ces produits, nouvellement formés, ont été testés afin d'identifier leurs profils antibactériens, particulièrement, contre les bactéries gram-positives et gram-négatives, et qui ont donné de bon résultat (Ali *et al.*, 2019). Ainsi, In vitro,

La discussion

l'activité antibactérienne d'un liquide ionique synthétisé a été déterminée en mesurant les valeurs de concentration minimale inhibitrice pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* (Ali *et al.*, 2019). De plus, ces dérivés d'imidazolium ont également été évalués par rapport au biofilm produit par ces souches bactériennes. Tous les composés se sont révélés efficaces contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. En Mars 2020, une autre équipe de recherche (Virendra *et al.*, 2020) a pu synthétiser quatre liquides ioniques pour analyser leurs activités microbiennes et bactériennes. Ces liquides ioniques sont d'origine halogénure de 1-butyl-3-méthylimidazolium et qui ont été synthétisés par une métathèse et des réactions d'échange d'anions. Les tests ont été effectués par l'utilisation de la méthode de diffusion en puits pour les bactéries Gram-positives *Bacillus cereus* ainsi pour les bactéries Gram-négatives *Escherichia coli*. Les résultats obtenus par Virendra *et al.* (2020) confirment que le liquide ionique d'iodure de 1-butyl-3-méthylimidazolium a présenté des activités antibactériennes plus élevées par rapport les autres liquides ioniques étudiés. [28]

D'autres chercheurs ont fait l'objet de remplacer les antibiotiques, utilisés pour lutter contre certaines maladies de l'abeille domestique, par des traitements à base de propolis (Cristina *et al.*, 2012). [49]

En 2012, Cristina *et al.* ont réalisé un travail qui porte sur la lutte contre la loque américaine en utilisant une association propolis-antibiotique. Les échantillons de propolis provenant de différentes origines botaniques ont donné une efficacité avec une différence significative (Cristina *et al.*, 2012). L'étude précédente consiste à tester les effets des extraits éthanoïques de propolis de différentes origines sur la loque américaine *Paenibacillus larvae*. L'ensemble des échantillons de propolis a inhibé significativement la croissance de *Paenibacillus larvae* (Cristina *et al.*, 2012). Ces auteurs ont constaté une différence significative entre extraits éthanoïques de propolis dans la teneur en flavonoïdes

La discussion

totaux (allant de 2,4% à 16,4%), ainsi dans la teneur en polyphénols totaux (compris entre 23,3% et 63,2%) (Cristina *et al.*, 2012). Les mêmes chercheurs ont constaté que ce n'est pas seulement la teneur en composés de la propolis qui influence la force des effets antimicrobiens, mais ils rajoutent également l'effet de l'interaction entre les flavonoïdes des extraits de propolis. De ce fait, il est primordial de tenir compte les effets entre les divers produits chimiques lors des tests de ces produits sur les maladies de l'abeille. [49]

Dans le même ordre d'idée, une autre équipe de recherche (Mikio *et al.*, 2012) a étudié la possibilité d'inhiber la croissance de la bactérie *Paenibacillus larvae* en utilisant des bactéries lactiques isolées à partir de matières fermentées. Cette équipe a évalué également, *in vivo*, la capacité des bactéries lactiques à induire l'expression de gènes peptidiques antimicrobiens. Mikio *et al.* (2012) suggèrent que certaines bactéries lactiques stimulent la réponse immunitaire innée chez les abeilles, qui peuvent être utiles pour prévenir les maladies bactériennes chez les abeilles.

Conclusion

générale

et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives :

Ces dernières années, les mortalités enregistrées chez les colonies d'abeille domestique sont considérables. Les causes de ces mortalités sont multiples, à savoir, les conditions environnementales, les mauvaises pratiques apicoles, les ennemis naturels et les maladies. Dans cette étude, nous visons à utiliser des produits naturels pour lutter contre les maladies de l'abeille.

Dans cette étude, nous avons synthétisé deux nouveaux liquides ioniques *decationique*, *chloro d'éthanol* afin de les tester sur les maladies d'abeille domestique tellienne (*apis mellifera intermissa*), en l'occurrence *la loque américaine* *Paenibacillus larvae* et *l'ascosphérose* *Ascospheera apis*. Les raisons principales pour laquelle cette étude a été menée sont, d'une part, la résistance des agents causals des maladies aux antibiotiques provoquant une inefficacité de ces antibiotiques, et d'autre part, les résidus dans les produits de la ruche.

Malheureusement, l'état sanitaire actuel de notre pays n'a pas permis l'accomplissement de ces tests au niveau de laboratoire. Ces deux nouveaux liquides ioniques peuvent nous ouvrir une nouvelle approche de lutte naturelle contre les maladies de l'abeille domestique.

Les particularités de l'élevage des abeilles, l'apiculture, sont les produits de la ruche. Ces produits sont utilisés à une grande échelle par l'homme dans le monde entier, et ils sont considérés comme un traitement contre les maladies infectantes l'être humain « apithérapie ». C'est pour cette raison qu'on doit limiter en maximum les risques d'avoir des résidus indésirables dans les produits de la ruche.

Ces nouveaux produits étant naturels peuvent être utilisés, pas seulement, sur les maladies infectant l'abeille domestique, mais également sur

Conclusion générale et perspectives

d'autres maladies qui touchent les animaux domestiques. Les chercheurs devraient prêter attention à cet aspect et l'élargir.

Résumé

Résumé :

Depuis une dizaine d'années, on observe une mortalité accrue des colonies d'abeilles (*Apis mellifera*) dans le monde. Les causes de ces mortalités sont multiples, particulièrement, on trouve les maladies. La loque américaine *Paenibacilluslarvae* et l'ascosphérose *Ascospheera apis* sont des maladies dévastatrices des colonies d'abeille. Dans cette étude, nous avons synthétisé deux nouveaux liquides ioniques dans le but de les tester sur la bactérie *Paenibacilluslarvae* et le champignon *Ascospheera apis*. La situation sanitaire actuelle de notre pays n'a pas permis l'accomplissement de ces tests au laboratoire. Mais, selon les études précédentes sur l'activité biologique de liquide ionique, nous suggérons que ce produit étant naturel peut remplacer les antibiotiques pour traiter les maladies de l'abeille domestique.

Mots clés : Abeille domestique ; Traitement ; liquide ionique. ; Maladies ; *Paenibacilluslarvae* ; *Ascospheera apis* ;

Abstrat :

Over the past ten years or so, there has been an increased mortality of bee colonies (*Apismellifera*) around the world due to several diseases such as American foulbrood and ascospherosis. this phenomenon is the subject of extensive research into its etiology. It causes a brutal collapse of large-scale settlements. Its impact on the beekeeping sector is disastrous, but it also affects the ecosystem through pollination, which is carried out mainly by honey bees. This has serious repercussions on agriculture, food and feed, biodiversity and the economy. And to avoid these colony mortality, researchers are trying several medicine but no response against the disease. For this we wanted to change the medicine by natural products like ionic liquid.

ملخص:

على مدى السنوات العشر الماضية أو نحو ذلك ، كان هناك معدل وفيات متزايد من مستعمرات النحل حول العالم.

أسباب هذه الوفيات متعددة ، ولا سيما الأمراض الفطريات الأمريكية هي أمراض مدمرة لمستعمرات النحل. في هذه الدراسة ، قمنا بتصنيع سائلين أيونيين جديدين لاختبارهما على بكتيريا. لا يسمح الوضع الصحي الحالي في بلدنا بإجراء هذه الاختبارات المعملية. لكن وفقاً للدراسات السابقة حول النشاط البيولوجي للسائل الأيوني ، نقترح أن هذا المنتج طبيعي يمكن أن يحل محل المضادات الحيوية لعلاج أمراض نحل العسل.

Annexe :

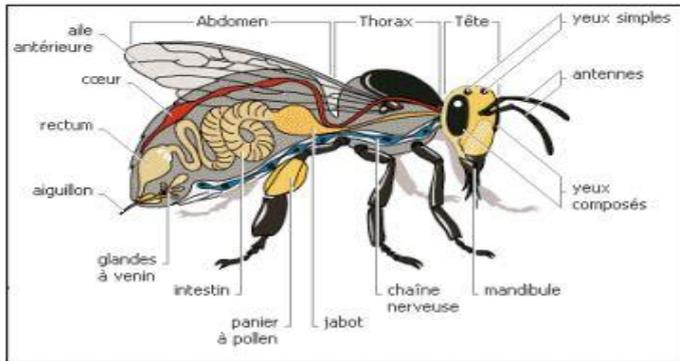


Figure 01: Morphologie de l'abeille (Hannebelle ., 2010).[70]



Figure 02 : (Anonyme 2012) :Cadre atteint de loque Américaine

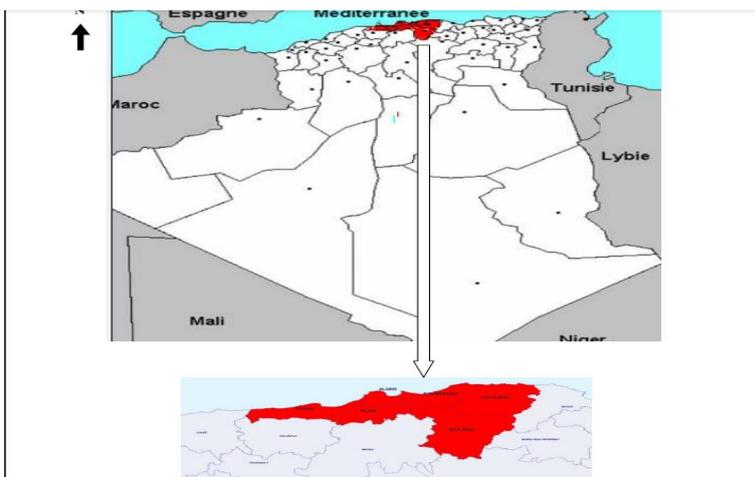


Figure 3 - Zone d'étude (région médio-septentrionale de l'Algérie) Echelle : 1/10.000.000 (ADJLANE., 2012)[02]

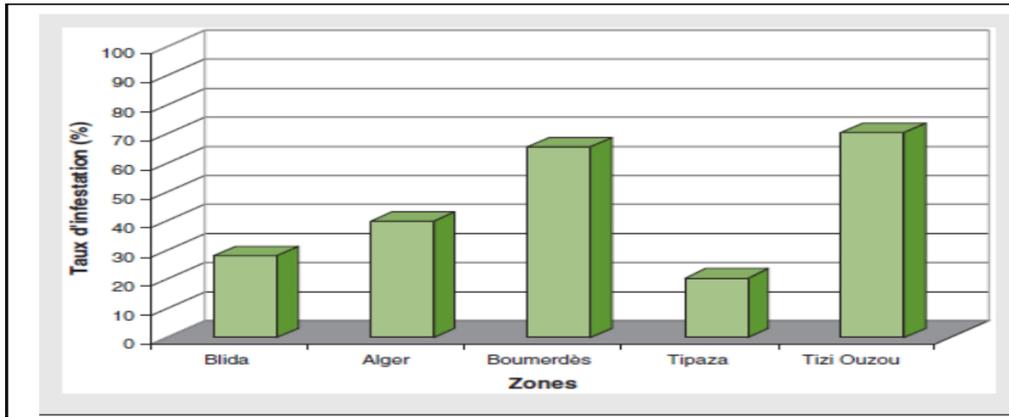


Figure 04 : Prévalence de la loque américaine dans les cinq zones étudiées de l'Algérie (ADJLANE et al.,2012)

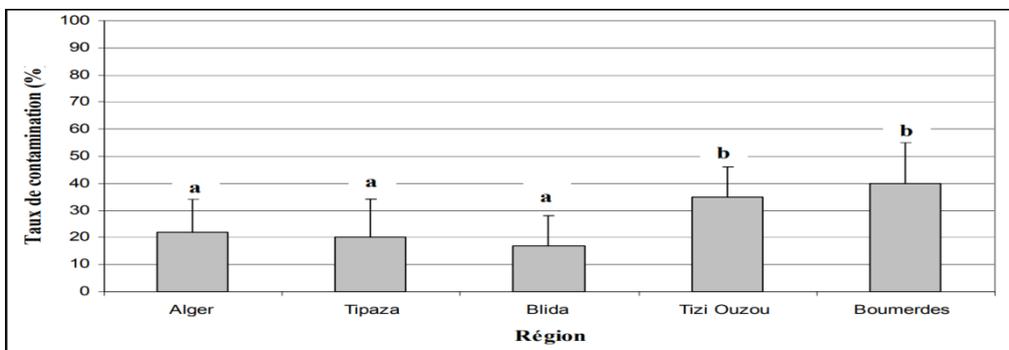


Figure05 :taux de contamination dans les cinq région en Algérie (ADJLANE et al.,2012)



Figure 06 : (Anonyme 2016) Cadre atteint de l'ascosphérose .



Figure7 :Liquide ionique décationique



Figure8 Liquide ionique de chloroéthanol

Les références :

- 1) Adjlane N, Doumandji SE, Haddad N, 2012. Situation de l'apiculture en Algérie : facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera* intermissa. *CahAgric.* 21(4), 235-241
- 2) ADJLANE Nouredine, 2012, Doctorat en sciences agronomiques, Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale *Apis mellifera* intermissa dans la région médio-septentrionale de l'Algérie
- 3) ANSES (2015). rapport d'expertise collective Saisine « 2012-SA-0176 Co-expositions abeilles p 58-59.
- 4) Gilliam, M. (1993) Chalkbrood control. In L.J. Connor, T. Rinderer, H.A. Sylvester, & S. Wongsiri (Eds.), *Asian Apiculture* (pp. 589-595). Cheshire, CT 06410, USA: Wicwas Press.
- 5) Glinski Z (1982). Studies on pathogenicity of *Ascosphaera apis* for larvae of the honeybee *Apis mellifera* L. Part II. Relationships between biochemical types and virulence of *A. apis*. *Annales Universitatis Mariae Curie Sklodowska Sectio DD. Med. Vet.* 37 (8), 69.
- 6) Halogen-free ionic liquids and their utilization as cellulose solvents
- 7) Heath, L. (1982) Development of chalkbrood in a honeybee colony: a review. *Bee World* 63, 119-130.
- 8) JOYEN C. , 2013, LE SYNDROME D'EFFONDREMENT DES COLONIES D'ABEILLES (*Apis mellifera* L.), p67-68
- 9) Karl Heinzinger Available online 8 April 1998.
- 10) M. Naceur Rabie , MAGISTER EN PHYSIQUE Ecole Doctorale Energies Renouvelables, Etude des propriétés physico-chimiques des liquides ioniques dans le but de leur utilisation dans un concentrateur solaire, 2013.

Les références

- 11) Mollier P., Sarazin M., Savini I. (2009). Le déclin des abeilles, un cassetête pour la recherche. INRA. Université d'Avignon « Abeille et environnement».
- 12) Naomi Nishimura ,Yasuhiro Nomura ,Nobuhumi Nakamura ,Hiroyu ,kiOhno En Septembre 2005 préparons Brins d'ADN volés avec un fragment liquide ionique .
- 13) Ohno, H., 2005. Electrochemical aspects of ionic liquids. Wiley Online Library.
- 14) S. Chun, S. V. Dzyuba, et R. A. Bartsch, « Influence of structural variation in roomtemperature
- 15) SHIMANUKI H., and KNOX D.A., 1988 - Improved method for the detection of Bacillus larvae spores in honey. Am. Bee. J., 128: 353 - 354.
- 16) -(FAUCON, 1992). FAUCON J.P., VITU C., RUSSO P. et VIGNONI M., 1992 , Diagnostic de la paralysie aigue : application à l'épidémiologie des maladies virales en France en 1990.
- 17) -. Cougoule N., Abadie G., Vautor E., Chauzat M-P., Aubert M., Faucon J-P., 2008. Study of the sensitivity to tetracycline of European isolates of Paenibacillus larvae, the causal agent of American foulbrood in honey bees (Apismellifera). Revue Médecine. Vétérinaire., Vol. 159(6) : 323-326
- 18) -. Kochansky J., Knox D., Feldlaufer M., Pettis J., 2001. Screening alternative antibiotics against oxytetracyclinesusceptible and resistant Paenibacillus larvae. Apidologie, Vol. 32, 215–222.
- 19) _ Rex XRenWeiOu. 2000 Max Tishler Laboratory of Organic Chemistry, Department of Chemistry, Wesleyan University
- 20) _ YanlongGu ,Feng Shi ,You quanDeng . 2004 Yanlong Gu(Center for Green Chemistry, Lanzhou Institute of Chemical Physics

Les références

- 21) _Effects of catalyst composition on the ionic liquid catalyzed isobutane/2-butene alkylation
Author links open overlay pane
Ying Liu , RuiLiHongjuan Sun, Ruisheng Hu Mars 2015 .
- 22) 2004 - Molecular epidemiology of Paenibacillus larvae larvae and incidence of American
A. Ballis – Conseiller technique apicole – Chambre d’agriculture d’Alsace - Version 2016
- 23) -A. Ballis – Conseiller technique apicole – Chambre d’agriculture d’Alsace - Version 2016
- 24) AdemilsonEspencerEgeaSoares , Marla Spivak , Journal of Invertebrate Pathology 97 (2008) 273–281 .
- 25) -Adjlan N. ,2012 , Etude des principales maladies bactériennes et virales de l’abeille locale Apis mellifera intermissa dans la région médio-septentrionale de l’Algérie,51
- 26) -Adjlane N., Kechih S., Doumandji S.E., Haddad N., 2012. Survey of american foulbrood in Apis mellifera intermissa colonies in mid-northern region of algeria
Uludag Bee Journal, Vol. 12(3): 98-105
- 27) -AIZEN M.A., GARIBALDI L.A., CUNNINGHAM S.A., KLEIN A.M. (2009) How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production.
- 28) -Ali Niyazi ,Duman Ismail ,OzturkAyça ,TunçelKasim ,OcakogluSuleyman, GokhanColak , Mine Hoşgör-Limoncu ,Fatma Yurt .
En Octobre2019 étudiant la Synthèse de nouveaux liquides ioniques hydrosolubles
- 29) -ALIPPI A.M., LEÓN I.E., LÓPEZ A.C. (2014) Tetracycline-resistance encoding plasmids from Paenibacillus larvae, the causal agent of American foulbrood disease, isolated from commercial honeys. Int. Microbiol.
- 30) -Alleaume C. (2012). L’abeille domestique (Apis mellifera), exemple

Les références

- 31) -ALLIPI A.M., REYNALDI F.J., LOPEZ A.C., DE GIUSTI M.R. and AGUILAR O.M.,
- 32) -Anna Gloria SABATINI C.R.A. Istituto Nazionale Apicoltura Bologne, Italie,(5-2005) n°108 abeilles
- 33) -Aronstein K., Murray K. Chalkbrood disease in honey bee. Journal of Invertebrate Pathology 103: 520-529 (2010).
- 34) -Aronstein, K. et K. Murray (2010). "Chalkbrood disease in honey bees." Journal of invertebrate pathology
- 35) -ASHIRALIEVA A. and GENERSCH E., 2006 -
Reclassification, the etiological agent of American foulbrood in honeybees - a review.
- 36) -Author links open overlay panel Walter Florio ,Cosmeri Rizzato ,Stefano Becherini, Loren zoGuazzelli ,Felicia D'Andrea, Antonella Lupetti 2020
- 37) -BAILEY L., 1967 - The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus, *Ascosphaera apis*, for larvae of the honeybee, *Apis mellifera*, pp. 162 - 167, in *Insect Pathology and Microbial Control*. Ed. P.A. Van Der Laan, North Holland publish. comp., Amsterdam, 231 p.
- 38) -BAILEY L., 1981 - Honey bee pathology. Academic Press, London - New York, 125 p.
- 39) -BAILEY L., BALL B.V. (1991) Honey bee pathology. Academic Press
- 40) -Barbara Kirchner. « Ionic Liquid » Universität Leipzig Wilhelm-Oswald Institut für Physikalische und Theoretische Chemie Linnéstr. 2 04103 Leipzig, Germany. Springer Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- 41) -BOUCHER S. (2016) Maladies des abeilles. Editions France Agricole
- 42) -BOUCHER S. (2016) Maladies des abeilles. Editions France Agricole

Les références

- 43) -BROODSGARD C.J., HANEN H. and RITTER W., 2000 -
Progress of *Paenibacillus larvae* infection in individually inoculated honey bee larvae reared single in vitro, in micro colonies, or in full-size colonies.
- 44) -BROODSGARD C.J., HANEN H. and RITTER W., 2000 -
Progress of *Paenibacillus larvae* infection in individually inoculated honey bee larvae reared single in vitro, in micro colonies, or in full-size colonies. *J. Apic. Res.*, 39 : 19 - 27.
- 45) -C. Chiappe et D. Pieraccini, « Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity », *Journal*
- 46) -Chorbinski P., Rypula K. Studies on the morphology of strains *Ascosphaera apis* isolated from chalkbrood disease of the honey bees. *Electronic Journal of Polish Agriculture Universities* 6(2) art-05 (2003).
- 47) -Clélia JOYEN (2013), le syndrome d'effondrement des Colonies d'abeilles, ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT
- 48) -Cornman R, Bennett A, Murray K, Evans J, Elsik C, Aronstein K (2012a). Transcriptome analysis of the honey bee fungal pathogen, *Ascosphaera apis*: implications for host pathogenesis. *BMC Genomics*. 13(1), 1-13
- 49) -Cristina Manuela Mihai , Liviu Al. Marghitas , Daniel S. Dezmirean , Flore Chirila, Robin F.A. Moritz, Helge Schluns , *Journal of Invertebrate Pathology* 110 (2012) .
- 50) -De Graaf D . ,Alippi A .,Antunez K . ,Aronstein K., Budg H., et al., 2013, Standard methods for American foulbrood research, *JAR* ,vol.52,P16.
- 51) -Demil A., Denis M., Lasselin C., Verriest D.F. (2015). Les abeilles et
- 52) development of resistance and the problem of residues

Les références

- 53) Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa, Via San Zeno 37-39, 56127
- 54) -ELZEN P.J., WESTERVELT D., CAUSEY D., et al. (2002) Method of application of tylosin, an anti-biotic for American foulbrood control, with effects on small hive beetle (Coleoptera: Nitidulidae) populations. *J. Econ. Entomol*
- 55) -Esther Margarida A.F. Bastos , Michael Simone , Daniela Macedo Jorge ,
- 56) extraction by a crown ether », *Analytical Chemistry*, vol. 73,2001.
- 57) -FERNANDEZ N., et COINEAU Y., 2007 - Maladies, parasites et autres ennemis de
- 58) -Flores J M., Spivak M ., Gutierrez I ,2005, Spores of *Ascosphaera apis* contained in wax foundation can infect honeybee brood ,*JAR* , 108 (2005) 141–144,p142
- 59) foulbrood in Argentinean honeys from Buenos Aires province. *J. Apic. Res.*
- 60) -GENERSCH E., ASHIRALIEVA A. and FRIES I., 2005 - a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honey bees. *Appl. Environ. Microbiol.*
- 61) -GENERSCH E., ASHIRALIEVA A. and FRIES I., 2005 - Strain and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a bacterial pathogen causing
- 62) -Genersch, E. (2010). "American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*." *Journal of invertebrate pathology* 103 Suppl 1: S10-19.
- 63) -Genersch, E. et M. Aubert (2010). "Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.)." *Veterinary research* 41(6): 54.

Les références

- 64) -Genersch, E., E. Forsgren, J. Pentikainen, A. Ashiralieva, S. Rauch, J. Kilwinski et I. Fries (2006). "Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation."
- 65) -Glinski, Z. et K. Buczek (2003). "Response of the Apoidea to fungal infections." *Apiacta*.
- 66) -GUILLIFORD R.B., 1994 - Chalkbrood disease in Victoria. *The Australasian Beekeeper*, 96: 254 - 255.
- 67) -HAYNES W.C., 1972 - The catalase test, an aid in the identification of *Bacillus larvae*. *Am. Bee. J.*, 112: 130 - 131.
- 68) -HEATH L.A.F., 1982 - Chalkbrood pathogens: A review. *Bee World*, 63:130 - 135.
- 69) -HEATH L.A.F., 1985 - Occurrence and distribution of chalkbrood disease of honeybees. *Bee World*, 66: 9 - 15.
- 70) -Hennebelle S., 2010. L'abeille In *Doc apiculture*.
- 71) -Hugo Simon QUAEGEBEUR, 2019 DOCTORAT VÉTÉRINAIRE, LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL.
- 72) -Hugo Simon QUAEGEBEUR.(2019) . Doctorat vétérinaire. LE COMPORTEMENT HYGIÉNIQUE CHEZ L'ABEILLE MELLIFÈRE (*APIS MELLIFERA*)
- 73) ionic liquids on the selectivity and efficiency of competitive alkali metal salt
- 74) -J. G. Huddleston, A. E. Visser, W. M. Reichert, H. D. Willauer, G. A. Broker, et R. D. Rogers, « Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazoliumcation », *Green chemistry*, vol. 3, no 4, p. 156–164, 2001.
- 75) -J.M. Flores , M. Spivak , I. Gutierrez , *Veterinary Microbiology* 108 (2005) 141–144

Les références

- 76) -Jay D. Evans, *Journal of Invertebrate Pathology* 83 (2003) 46–50 .
- 77) -Jeane F. (1998). *Physiologie de l'abeille. L'alimentation. Bulletin Technique Apicole*
- 78) -K. N. Marsh, J. A. Boxall, et R. Lichtenthaler, « Room temperature ionic liquids and their mixtures—a review », *Fluid Phase Equilibria*, vol. 219, no 1, p. 93–98, 2004.
- 79) -KLEIN A.-M., VAISSIÈRE B.E., CANE J.H., et al. (2007) Importance of pollinators in changing land-scapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 274
- 80) -Kluser S, Peduzzi P (2007). "Global Pollinator Decline: A Literature Review". UNEP/GRID Europe. © UNEP 2007.
- 81) -KOENIG J., KOENIGER N. and ERICKSON E., 1986 - Effect of type of brood comb on chalk brood disease in honey bee colonies. *J. Apic. Res.*, 25: 58 – 62.
- 82) l'abeille mellifère. Ed. Atlantica,
- 83) l'homme. Les chercheurs volent au secours des abeilles.
- 84) -Le conte Y., Navagas M. (2008). *Changements climatiques : impact sur*
- 85) -Lee GM, McGee PA, Oldroyd BP (2013). Variable virulence among isolates of *Ascosphaera apis*: testing the parasite–pathogen hypothesis for the evolution of polyandry in social insects. *Naturwissenschaften*. 100(3), 229-234
- 86) les populations d'abeilles et leurs maladies
- 87) --LINDRSTROM A., KORPELA S. and FRIES I., 2008 - Horizontal transmission of *Paenibacillus* larvae spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through robbing. *Apidologie*, 39: 1 – 8.
- 88) -LODESANI M. and COSTA M., 2005 - Limits of chemotherapy in beekeeping:

Les références

- 89) -MARTEL A.C., ZEGGANE S., DRAJNUDEL P., FAUCON J.P. and AUBERT M.,2006 - Tetracycline residues in honey after hive treatment
- 90) -MIYAGI T., PENG C.Y.S., CHUANG R.Y., MUSSEN E.C., SPIVAK M.S. and DOIR.H., 1999 - Verification of Oxytetracycline-resistant American Foulbrood Pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States
- 91) -MURRAY K.D. and ARONSTEIN K.A., 2008 - Transformation of the gram-positive honey bee pathogen, *Paenibacillus larvae*, by electroporation. *J. Microbiol.*
- 92) -NEUEDORF S., HEDETKE K., TANGEN G. and GENERSCH E .2004 –Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a honey beebacterial pathogen
- 93) -New room temperature ionic liquids with interesting ecotoxicological and antimicrobial properties overlay panel (Salman M.Saadeh ,ZeyadYasseen, FadelA.Sharif , HazemM.AbuShawishSeptembre 2009)
- 94) -O.VBushkova ,V.MZhukovsky ,B.ILirovaA ,L.Kruglyashov. 1999 Institut de physique et de mathématiques appliquées et Université d'État de l'Oural
- 95) of additional heat. *Biochimica et Biophysica Acta*, 92 :18 – 22.
- 96) of physical organic chemistry, vol. 18, no 4, 2005 .
- 97) -OIE (2016a). American foulbrood of honey bees: 15pp
- 98) -P.J. Dyson, *Metal catalysed reactions in ionic liquids*, Kluwer Academic Pub, 2005.
- 99) -*Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of honeybees
- 100) Panel JohnGräsvik ,BertilEliasson ,Jyri-Pekka ,Mikkola November 2012 .

Les références

- 101) -PEDERSON K., 1976 - Chalkbrood: Possible methods of control, and the effect
- 102) pour l'étude de l'attractivité des plantes cultivées sur les insectes pollinisateurs.
- 103) -Qin X, Evans JD, Aronstein KA, Murray KD, Weinstock GM (2006). Genome sequences of the honey bee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*. *Insect Mol Biol.* 15(5), 715-8.
- 104) -Ravazzi G. (2003). Abeille et apiculture. Ed de Vecchi S.A. Paris,109p.
- 105) -Received 11 December 2019, Revised 19 March 2020, Accepted 23 March 2020, Available online 13 April 2020. Synthèse de colloïdes de nanoparticules d'argent dans des liquides ioniques d'halogénure d'imidazolium et de leurs activités antibactériennes pour les bactéries Gram-positives et Gram-négatives
- 106) situhybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and
- 107) -SPIVAK M.S. and REUTER G.S., 2001 - Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior
- 108) -Spores d'*Ascosphaera apis* contenues dans un fond de teint en cire peut infecter le couvain d'abeilles
- 109) -STACE P., 1994 - Chalkbrood – learning to live with it. *The Australasian Beekeeper*,95: 319 - 322.
- 110) -TABER S., 1986 - Breeding bees with resistance to chalkbrood disease. *Am. Bee. J.*,126: 823 - 825.
- 111) -Theantana, T. et P. Chantawannakul (2008). "Protease and β -N-acetylglucosaminidase of honey bee chalkbrood pathogen *Ascosphaera apis*."

Les références

- 112) Thèse pour l'obtention de diplôme du Doctorat en médecine vétérinaire.
- 113) -Trouiller J ,2004,DES INSTRUMENTS NOVATEURS POUR L'APICULTURE,vol 98(1),p26.
- 114) -Vojvodic S, Jensen AB, Markussen B, Eilenberg J, Boomsma JJ (2011). Genetic Variation in Virulence among Chalkbrood Strains Infecting Honeybees. PLoS ONE. 6(9), e25035.
- 115) -WAHL O. and ULM K., 1983 - Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia*, 59: 106 - 128.
- 116) -Wilson M., Brinkman D., Spivak M., Garder G., Cohen J . *Journal of Invertebrate Pathology* 124: 44-50 (2015)
- 117) -WILSON W.T., 1971 - Resistance to American foulbrood in honey bees XI. Fate of *Bacillus* larvae spores ingested by adults. *J. Invertebr. Pathol.*, 17: 247 – 255.
- 118) -YODER J.A., NELSON B.W., MAIN L.R., et al. (2017) Water activity of the bee fungal pathogen *Ascosphaera apis* in relation to colony conditions. *Apidologie* 48(2)
- 119) -YUE D., NORDHOFF M., WIELER L.H. and GENERSCH E., 2008 - Fluorescence in
- 120) -YUE D., NORDHOFF M., WIELER L.H. and GENERSCH E., 2008 - Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). *Environ. Microbiol.*, 10: 1612 – 1620.
- 121) Y. Chaker et al., « Synthesis and characterization of 1-(hydroxyethyl)-3-methylimidazolium sulfate and chloride ionic liquids », *Journal of Molecular Structure*, vol. 1113, p. 182–190, 2016.
- 122) Taqiyeddine MOUMENE, 2014 , Doctorat, Étude et Caractérisation d'Électrolytes à Base de Liquides Ioniques Dicationiques