

#### République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique Université de Tissemsilt



#### Faculté des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

De Master académique en

Filière: sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie Appliquée

Présenté par :  $M^r$  ADOUM Mohamed

#### Thème

Activité Antifongique des huiles essentielles d'Ammoides Verticillata sur le champignon pathogène des abeilles domestiques Aspergillus Niger dans la région de Tissemsilt

Soutenu le, juin 2022

#### **Devant le Jury**

M <sup>r</sup> DRIS Ibrahim	Président	M.A.B	Univ-Tissemsilt
M <sup>r</sup> BOUNOUIRA Yassine	Encadrant	M.C.B	Univ-Tissemsilt
M <sup>lle</sup> LAABAS Saadia	Examinatrice	M.C.B	Univ-Tissemsilt

Année universitaire: 2021-2022.



#### République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique Université de Tissemsilt



#### Faculté des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la Nature et de la Vie

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

De Master académique en

Filière : sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :  $M^r$  ADOUM Mohamed

#### Thème

Activité Antifongique des huiles essentielles d'Ammoides Verticillata sur le champignon pathogène des abeilles domestiques Aspergillus Niger dans la région de Tissemsilt

Soutenu le, juin 2022

#### **Devant le Jury**

M<sup>r</sup> DRIS Ibrahim Président M.A.B Univ-Tissemsilt

M<sup>r</sup>BOUNOUIRA Yassine Encadrant M.C.B Univ-Tissemsilt

M<sup>lle</sup> LAABAS Saadia Examinatrice M.C.B Univ-Tissemsilt

Année universitaire: 2021-2022

# Remerciement

Avant tout je remercie ALLAH le tout puissant denous avons accordé la santé, le courage et la patience pour toutesces longues années d'étude et pour la réalisation de ce mémoireque nous espérons être utile.

Je tiens tout d'abords à manifester toute ma gratitude à mon directeur de mémoire Mr. Bounouira Yassine Maitre conférence B à la faculté des sciences et de technologie Université de Tissemsilt pour ses qualités humaines et sa gentillesse. Merci d'avoir accepté de m'encadrer, de m'avoir proposé le thème de la recherche et surtout pour votre disponibilité.

Je remerciements vont aux membres du jury Mr **DRIS Ibrahim** et M<sup>elle</sup> **LAABAS Saadia** 

Je remercie chaleureusement les membres du jury qui me font l'honneur de présider et d'examiner ce modeste travail.

Je remercie très sincèrement Melle HENNI Asma, Doctorante à l'Université de Tissemsilt, pour leurs conseils, soutien et leurs disponibilités tout au long de mon travail.

Je remercie A toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Je n'oublie pas de remercier A Toute mes amies de master





#### Je dédie ce travail à :

Mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé,

Que dieu les protège,

Je profite cette occasion pour leur dire encore merci pour tout

Que vous avez fait pour moi et je vous souhaite le

Tout le bonheur

Toutes mes sœurs

À mon seul frère: Boualem

A toute la famille ADOUM

Mes amis surtout: Rabah

A toutes les personnes qu'on marquer leurs présences dans ma vie Et toutes mes connaissances du département de sciences et de technologie.



## Table des matières

Rer	nercie	ements		1
Déc	licace	s		II
List	tes de	figures	3	VII
Lis	tes de	s tablea	aux	VII
List	tes des	s abrév	iations	IX
		Cł	apitre I: Synthèse bibliographiques	
Intr	oduct	ion		1
1.	Défi	nition.		3
2.	Con	npositio	on chimique des huiles essentielles	3
3.	Clas	sificati	on des huiles essentielles	4
4.	Effe	ts phys	siologiques et physiques des huiles essentielles	4
4	.1.	Effets	physiologiques	4
4	.2.	Effets	physiques	4
5.	Acti	on des	huiles essentielles	5
6.	Tox	icité de	es huiles essentielles	5
7.	Con	ditions	de conservation et stockage des huiles essentielles	6
8.	Mét	hodes o	d'extraction des huiles essentielles	6
8	.1.	Distill	ation	6
8	3.2.	Hydro	odistillation	6
8	3.3.	Distill	ation par entraînement à la vapeur d'eau	6
8	3.4.	Hydro	odiffusion	7
9.	Acti	vités b	iologiques des huiles essentielles	7
9	.1.	Activi	tés antimicrobiennes	7
	9.1.	1. A	Activité antibactérienne	7
	9.1.2	2. <i>A</i>	Activité antifongique	8
	9.1.3	3. <i>A</i>	Activité antivirale	8
10.	C	ontrôle	de qualité des huiles essentielles	9
II. A			rticillata	
1.	Prés	entatio	n de la plante	10
2.	Non	ns sciei	ntifiques	10

3.		Rép	partition géographique	11
	3.	1.	Répartition dans le monde.	11
	3.2	2.	Répartition en Algérie	11
4.		Des	scription botanique de l'Ammoides verticillata	11
5.		Syst	tématique de la plante	12
6.		Con	mposition chimique	13
7.		Prop	priétés et Utilisation	13
	7.	1.	Usage culinaire	13
	7.2	2.	Usage thérapeutique	13
II	[.	L	L'abeille domestique (Apis mellifera)	16
1.		L'ab	beille domestique et son origine	16
2.		Syst	tématique (Classification)	16
3.		Mor	rphologie de l'abeille	17
	3.	1.	La tête	17
	3.2	2.	Thorax	17
	3.3	3.	L'abdomen	18
4.		La r	répartition géographique de l'abeille	18
	4.	1.	Dans le monde	18
	4.2	2.	En Algérie	19
		4.2.	.1. Apis mellifera intermissa (Buttel-Reepen, 1906)	19
		4.2.2	.2. Apis mellifera sahariensis (Baldensperger, 1922)	20
5.		Les	différents castes d'abeille domestique	20
	5.	1.	La reine	20
	5.2	2.	Les ouvrières stériles	20
	5.3	3.	Les mâles ou faux bourdons	21
6.		Cyc	cle de vie des abeilles	21
7.		Rôle	e d'Abeilles	22
	7.	1.	Rôle de pollinisateur	22
	7.2	2.	Rôle économique	22
	7.3	3.	Rôle de bio-indicateur	22
8.		Mal	ladies de l'abeille	22
	8.	1.	Maladies du couvain	22
		8.1.	1. La loque américaine	22
		811	2 La logue européenne	23

	8.1.3.	Le couvain platre	23
	8.1.4. Le	couvain pétrifié	23
8	3.2. Mal	adies des adultes	23
	8.2.1.	La nosémose	23
	8.2.2.	L'acariose	24
8	8.3. Mal	adies du couvain et des adultes	24
	8.3.1.	Les mycoses	24
	8.3.2.	Maladies parasitaire	24
	8.3.3.	Les virus	25
9.	Les enne	mie	25
9	0.1. Les	petits prédateurs	25
9	0.2. Les	mammifères	25
1.	Générali	té sur <i>l'Aspergillus</i>	26
2.	Classific	ation d'Aspergillus Niger	27
3.	Ecologie	s	27
4.	Morphol	ogie	28
4	l.1. Asp	ect macroscopique	28
4	4.2. Asp	ect microscopique	28
5.	Habitat		29
6.	Reprodu	ction	29
7.	Toxicité	et pouvoir pathogène	30
8.	Pathogér	nèse sur les abeilles	30
		Chapitre II: Matériels Et Méthodes	
Par	tie I: Zone	d'étude	32
1.	Présenta	tion de la zone d'étude	32
2.	Situation	géographique et administrative de la wilaya de TISSEMSILT	32
3.	Principa	ıx indicateurs de la wilaya	33
4.	La topog	raphie	34
5.	Géologie		34
6.	Climatol	ogie de la wilaya	35
6	5.1. Ten	npérature	36
6.2	. Pluvio	métrie	36

6	.3.	Vent	37		
7.	La population de la commune de TISSEMSILT				
Par	tie II:	: Partie expérimentale	39		
I.	Mat	tériels et Méthodes	39		
1.	Intr	roduction	39		
2.	Réc	colte des insectes infectés	39		
3.	Isol	lement et identification de l'Aspergillus Niger	40		
3	.1.	Isolement des champignons	40		
3	.2.	Milieu de culture	40		
3	.3.	Purification	41		
3	.4.	Méthode d'identification	41		
	3.4.	.1. Examen macroscopique	41		
	3.4.	.2. Aspect macroscopique d'Aspergillus Niger	41		
	3.4.	.3. Examen microscopique	42		
4.	Cho	oix des plantes pour l'extraction	42		
4	.1.	L'extraction de l'huile essentielle	42		
4	.2.	Conservation des huiles essentielles	43		
5.	Test	st de l'efficacité d HE sur Aspergillus	44		
5	.1.	Étude mycologique	44		
	5.1. de d	.1. Test d'efficacité d'HE d' <i>Ammoide verticillata</i> sur l' <i>Aspergillus Niger</i> par la méthodiffusion en puits			
	5.1.	.2. Lecture des résultats (Zone d'inhibition)	45		
		Chapitre III:Résultats et Discussion			
I.	Rés	sultats et Discussion	47		
1	. R	Résultats	47		
1	.1.	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite	47		
1	.2.	Identification de la souche fongique	47		
	1.3. Nige	L'activité antifongique des huiles essentielles de l' <i>Ammoides verticillata</i> sur l' <i>Asperg</i> ger 48	gillus		
1	.4.	Corrélation entre les zones d'inhibition et les doses de l'huile essentielle	51		
1	. D	Discussion	53		
Cor	nclusi	ion	55		
Réf	érenc	ces bibliographiques	56		

# Listes de figures

Figure 01:la plante Ammoides verticillata (Vincent, 2009)	10
Figure 02:Description d'Ammoides verticillata (Desf.) Briq (Benoît, 2012)	12
Figure03: Morphologie de l'abeille (Hennebelle, 2010 In Pelletier ,2010)	17
Figure 04:Tendances géographiques et temporelles de la diversification (WinfieldΜ	on
Christine, 2006)	19
Figure 05:La localisation d'apis mellifera en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon, 1994	4)19
Figure 06 : Morphologie des trois castes (Clément, 2011)	21
Figure 07:Différents stades de développement d'une abeille (Bertrand, 2003)	21
Figure 08: La structure d'Aspergillus Niger (Kiran, 2016)	28
Figure 09 : Aspect microscopique (hyphe et spores) d'Aspergillus Niger (Benazir et al,	
Figure 10:Structure de l'appareil conidien des Aspergillus. (Jesus & Cordova, 1999)	
Figure 11: Image satellitaire de La wilaya de Tissemsilt (Google Maps)	
Figure 12: Situation géographique de la wilaya de TISSEMSILT (Andi, 2013)	33
Figure 13: diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tissemsilt	35
Figure 14:Diagramme représentatif des précipitations mensuelles (2006-2016) (SMK)	37
Figure 15: Larves infectées par l'Aspergillus Niger dans le milieu Sabourand (originale	e)39
Figure 16 : Les étapes de préparation du milieu de culture (originale)	40
Figure 17: Aspect macroscopique d'Aspergillus Niger	41
Figure 18: Montage d'hydrodistillation type Clevenger (originale)	43
Figure 19 : flacon brun bien fermé pour la conservation d'HE (originale)	43
Figure 20: Principe de la méthode de diffusion en puits.	44
Figure 21 : Mode opératoire (originale)	45
Figure 22: Lecture des résultats (Zone d'inhibition) (originale)	46
Figure 23: Aspects macroscopique et microscopique d'Aspergillus Niger	48
Figure 24 :L'activité antifongique des huiles essentielles de l'Ammoides verticillata sur	
l'Aspergillus Niger	49
Figure 25: Surface d'inhibition de <i>l'Aspergillus Niger</i> par rapport aux doses de l'huile	
essentielle d'A. Verticillata utilisées.	50
Figure 26 : Régression linéaire simple entre Le taux d'inhibition et les doses de l'huile	
essentielle	52

## Listes des tableaux

Tableau 01: Classification systématique de l'Ammoides verticillata (Benoit et al, 2016)	12
Tableau02:Enquête thérapeutique d'Ammoides verticillata (Felidj et al, 2010)	14
Tableau 03:classification d'Aspergillus Niger (Chabasse et al, 2002)	27
Tableau 04:Répartition mensuelle de la température (2006-2016)	36
Tableau05: Caractères organoleptiques de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata	47
Tableau06: Caractères macroscopiques et microscopiques de champignon isolé	48
Tableau 07: Moyennes des taux d'inhibition	51
Tableau 08: Calcul du coefficient de corrélation de Pearson entre le taux d'inhibition et les	ļ
doses utilisée.	52

#### Listes des abréviations

A. Verticillata: Ammoides verticillata

**HE**: Huile essentielle

A niger: Aspergillus niger

**RHE**: Rendement en Huile Essentielle.

%: pourcentage

**D SAT**: direction service agricole Tissemsilt.

**SMK**: stationmétéorologique ksar el chelala 2016

DRET: Direction des Ressources en Eau wilaya de Tissemsilt

**D.E.T**: Direction de l'Environnement de Tissemsilt

°C: degré Celsius.

**g**: gramme.

 $\mu L$  : microlitre.

Mm:millimètre

ml: millilitre.

# Introduction

#### Introduction

L'abeille est un insecte social ayant un rôle très important dans la pollinisation et dans l'agriculture. Un tiers de la nourriture consommée dans le monde est lié à l'activité pollinisatrice des abeilles (Gallai et al, 2009). Elle est productrice de miel et d'autres produits de la ruche tels que la propolis, la gelée royale et la cire (Fao, 2012).

Comme tous les êtres vivants, l'abeille subit ces derniers temps beaucoup de Pressions liées à divers facteurs environnementaux défavorables (pollution, réduction de la Couverture végétale, changement climatiques, humidité, hiver long, température etc.) L'abeille est un insecte susceptible d'être atteint de maladies propre à leurs différents stades de développement. Parmi ces pathologies, sont décrites les maladies parasitaires qui causent des dégâts importants dans les ruchers et les maladies bactériennes à savoir la loque américaine qui entraîne la mort des colonies par sa transmission rapides et la difficulté du traitement. Il existe des ennemis et prédateurs d'abeilles qui sont à l'origine de dépeuplement des colonies et de la destruction des ruches. Toutes ces maladies ont pour conséquences, la diminution des productions, des performances, régression du cheptel apicole et perte économique importante. (Ayme, 2014).

Parmi les agents pathogènes de l'abeille domestique on s'est beaucoup focalisé sur L'aspergillose est une maladie très rare du couvain d'abeilles domestiques causée par plusieurs champignons du genre Aspergillus. Aspergillus flavus a été le plus souvent signalé, suivi d'A. fumigatus, mais d'autres espèces incluant A. niger peuvent tuer les abeilles mellifères. Aspergillus est capable d'infecter l'hôte par le biais de l'intestin si les spores sont ingérées; par conséquent, tout comme pour Ascosphaera apis (couvain plâtré), les larves et les adultes peuvent être infectés. La plupart des espèces d'Aspergillus produisent des aflatoxines qui pourraient être la principale cause de décès chez les abeilles mellifères souffrant d'aspergillose (Jensen et al, 2013).

Face à cette situations plusieurs les recherches sur la lutte biologique contre les champignons pathogènes s'est intensifiée ces dernières années. Le développement de ces méthodes permettra d'identifier des stratégies de prévention plus respectueuses de l'environnement. Les matériaux d'origine naturelle fabriqués biologiquement par des plantes supérieures se sont avérés être des sources importantes de molécules capables d'inhiber la croissance des champignons (Caplice et Fitzgerald, 1999).

#### Introduction

Les huiles essentielles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques (Hamid et al, 2011), elles possèdent de nombreuses propriétés qui indiquent leur immense importance. Elles peuvent être: anti-infectieuses, antifongique, anti-inflammatoires, antispasmodiques, antimicrobiennes, anti-oxydantes, cytotoxiques et anticancéreuses (Bardeau, 2009).

Dans ce travail, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antifongique d'huile essentielle *d'Ammoides verticillata* sur la croissance de champignon *Aspergillus Niger* comme substances naturelles alternatives des produits chimiques utilisées dans le traitement.

Notre travail est structuré de manière classique, il s'articule autour de trois chapitres :

- Nous avons commencé notre travail par une introduction générale
- Le premier chapitre évoque une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles, le champignon *d'Aspergillus Niger*, les abeilles domestique et la plante *d'Ammoides verticillata*.
- Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental.
- Le troisième chapitre expose l'ensemble des résultats obtenus avec leur discussion.
- Enfin, notre travail est clôturé par une conclusion, suivis des références bibliographiques.

# Chapitre I: Synthèse bibliographique

#### I. Les huiles essentielles

#### 1. Définition

Le terme « huile essentielle » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. Les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) de ces composants.

Les huiles essentielles sont par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs. Ces extraits contiennent en moyenne 20à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes,...). Il est admis que l'effet de ces composés purs peut être différent de celui obtenu par des extraits des plantes (Fanny, 2008).

Les huiles essentielles sont connues dès l'antiquité pour leurs propriétés médicinales. Elles ont constitué petit à petit un outil remarquable de défense contre les insectes nuisibles en général et ceux des denrées stockées en particulier (**Kieta** *et al*, **2001**). Elles ont un effet antiseptique et antifongique.

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chémotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpénols, les cétones les aldéhydes, etc..... Il est à noter qu'elles ne sont pas constituées d'acides gras, ni d'aucune autre corps gras.

Il est important de faire la différence entre les huiles essentielles et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau. Elles sont volatiles, solubles dans l'alcool et dans l'huile mais pas dans l'eau, ce sont des substances odorantes. Une huile végétale est obtenue par pression et est constituée majoritairement de corps gras (Fanny, 2008).

#### 2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés de groupes terpénoides d'une part et de groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquent d'autre part (Bruneton, 1999).

Selon Bachelot et al. (2006), les huiles essentielles contiennent un grand nombre

d'éléments biochimiques. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les cétones, les aldéhydes terpiniques, les esters, les éthers et les terpènes.

Il est possible de trouver dans la composition de certaines huiles essentielles d'autres corps à faible proportion, tels que les coumarines volatiles (Regnault et al,2002).

#### 3. Classification des huiles essentielles

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu pardes aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupe - Les huiles majeures

- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (Chakou et Bassou, 2007).

#### 4. Effets physiologiques et physiques des huiles essentielles

#### 4.1. Effets physiologiques

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité ainsi que le développement des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent la chonolinestérase (**Keane et Ryan, 1999**). En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effet aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des arthropodes (**Fanny, 2008**).

#### 4.2. Effets physiques

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **Bakkali** (2008), les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets « utiles », pour la plante :

- ✓ repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation;
- ✓ comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques permettant de :
- ✓ conserver l'humidité des plantes désertiques ;
- ✓ réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition

chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse (effets allélopathiques);

✓ action répulsive sur les prédateurs par gout et effet défavorables.

#### 5. Action des huiles essentielles

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, larvicide, adulticide à l'égard de différents ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés polyphénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (**Regnault** *et al*, **2002**).

Différents travaux font référence à l'utilisation des huiles essentielles pour la protection des denrées stockées contre les insectes ravageurs. Le limonène agit contre différents ravageurs (**Ibrahim et** *al*, **2001**).

Selon NgamoletHance(2007), les constituants des huiles essentielles sont des sources potentielles d'insecticides botaniques. A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984; Salle et Pelletier, 1991).

#### 6. Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (**Degryse** *et al*, **2008**).

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse** *et al*, **2008**). Selon **Englebin** (**2011**), les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit: "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose "Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et fou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

#### 7. Conditions de conservation et stockage des huiles essentielles

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles implique des précautions particulières pour leur conservation. En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses, ces dernières, peuvent modifier les propriétés de l'huile essentielle. Il convient donc de les éviter par l'utilisation des flacons propres, secs et opaques en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis, fermés de façon étanche et stockés à l'abri de la chaleur et de la lumière (**Bruneton, 2009**). Ils doivent être fermés soigneusement après chaque usage. La durée de conservation des huiles essentielles est de 5 ans et celles des essences extraites de zestes d'agrumes, de 3 ans (**Couic-Marinier et Lobsteine, 2013**).

#### 8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

#### 8.1. Distillation

La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (**Franchommeet** *al*, 1990). Il existe trois procédés utilisant ce principe.

#### 8.2. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur ; le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.

#### 8.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant

pas directement dans l'eau bouillante (Franchommeet al, 1990).

#### 8.4. Hydrodiffusion

Cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide, donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale: « essence de percolation » (Franchomme*et al*, 1990; Richard, 1992).

#### 9. Activités biologiques des huiles essentielles

#### 9.1. Activités antimicrobiennes

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne (**Dorantes** *et al*, **2000** ; **Djenane** *et al*, **2002 et 2006** ; **Kuba** *et al*, **2004** ; **Bousbia**, **2004**). Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons.

#### 9.1.1. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à huiles essentielles riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, les friandises et autres préparations. Le thymol et eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E.coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Listeria monocytogènes, Clostridium spp, Helicobacterpylori* (Pauli, 2001).

Belliti et al, (2004) et Fisher et al, (2007), ont démontré que les huiles essentielles des Citrus sont efficaces contre les bactéries pathogènes, les spores bactériennes, mais également sur certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires telles que : Mycobacteriumjejuni, Listeria monocytogènes, E.coli 0157 :117, Staphylococcus aureus, Salmonella Thyphimurium, et crobacterbutzleri.

#### 9.1.2. Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (De Billerbeck et al, 2002; Koba et al, 2004; Oussou et al, 2004; Ouraini et al, 2005) et contre les dermaphytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que Candida albicans (levures), Cryptococcus neoformans et aspergillus fumigatus (Teixeira-Duarte, 2005). Des travaux similaires ont été réalisés par Mohammedi (2006) sur les huiles essentielles de Citrus ladaniferuscontre sept moisissures : Rhizopus, Mucor, Alternaria, Fusarium, Penicillium, Trichodermaet Aspergillus; (Omidbeygi et al, 2007) ont démontré que les huiles essentielles de thym, delasarriette et du cloude girofle présentent une activité anti fongique « in vitro » contre Aspergillus flavus.

Les huiles essentielles d'*Eucalptussaligna et d'Eucalptuscamalduiensis*ont montré un effet fongistatique vis-à -vis de *Phaeoramulariaangolensis* (**Jaset-Dongmo et al, 2008**). **Piacentini**en **1949 in** (**Fisher et Phillips, 2008**) a noté pour la première fois, les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de *Citrus* en solution, qui sont plus puissantes que les phénols comme désinfectants.

Selon les travaux de (**Prudent** et al. 1995 ; Sharma- Tripathi, 2006 ; et ViudaMartos et al, 2008). Les huiles essentielles de *Citrus* : d'orange douce, de citron, de mandarine et de pamplemousse montrent une activité antifongique contre *Aspergillus Niger*, A. Flavus, *Penicillium chrysogenum et P. verrucosum*.

Il a été établi d'après (Cox et al, 2000) que généralement les champignons sont plus sensibles que les bactéries.

#### 9.1.3. Activité antivirale

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des huiles essentielles telles que les monoterpènols et les monoterpénals. De nombreuses pathologies virales sévères traitées avec les huiles essentielles ont montré des améliorations importantes. L'effet antiviral de huile essentielle de *Menthapiperita*e été étudié « in vitro » contre les virus de *Herpes simplex* (HSV-1et HSV-2), une inhibition de 50% est obtenue avec des concentrations entre 0,002% et 0,008% (Schuhmacher et Reichling, 2003).

#### 10. Contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques: indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Pibiri, 2006). Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement «végétale », contrairement aux essences synthétiques ou «identiques naturelles» intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (Pibiri, 2006).

#### II. Ammoides verticillata

#### 1. Présentation de la plante

Ammoides verticillata est une plante odorante qui pousse dans le nord de l'Afrique ainsi qu'en Asie. On la trouve généralement dans les pelouses, les montagnes et dans les forêts (Quezel et Santa, 2017).

Il s'agit d'une plante médicinale et aromatique appartenant à la famille des Apiaceae. Espèce annuelle grêle, à tiges très ramifiées de 10 à 40cm de haut (**figure 01**), elle connaît un cycle dynamique tardif allant de mai à juillet (**Felidj** *et al*, **2010**).



Figure 1:la plante Ammoides verticillata (Vincent, 2009).

#### 2. Noms scientifiques

Noun kha (Merad, 1973), Nûnkha(Sijelmassi, 1991).

En français: Ajowan ou Ajawain (Wehmer, 1931).

Ptychotisverticillata, Ammoïdes (ou Ptychotis) verticillata, TrachyspermumBoiss (Quezel et Santa ,1963). Carumcopticum (Benth et hook) (Goudarzi et al, 2011). Trachyspermum ammi (Narayana et al. 1976). Trachyspermumcopticum (Schirner, 2004).

#### 3. Répartition géographique

#### 3.1. Répartition dans le monde

Dans le monde, On peut trouver l'*Ammoides verticillata*dans le Nord d'Asie, en Turquie, en Inde, en Iran, en Pakistan et en Afghanistan. Elle pousse spontanément en Afrique du Nord; en Ethiopie et en Egypte. Elle s'étend également dans la région méditerranéenne. Cependant, les Indous et les Perse pour son pouvoir remarquable antimicrobien (**Abdelouahid et Bekhechi, 2004**)

#### 3.2. Répartition en Algérie

C'est une espèce Algérienne endémique. D'après **Quezel et Santa** (1963), *l'Ammoides* verticillataest une plante médicinale Algérienne poussant dans la région de Tlemcen (l'Nordouest d'Algérie) et dans la région d'Adrar (le Sud-ouest d'Algérie). Selon (**Bouazza** et al, 2004) ces régions sont caractérisées par des sols calcaires. D'après **Ayache** (2007) cette plante est abondante dans les champs, les pelouses ou dans les forêts et/ ou sur les altitudes montagneuses d'environ 1190m d'hauteur.

#### 4. Description botanique de l'Ammoides verticillata

Ammoides verticillata (Nounkha) est une plante herbacée annuelle, grêle glaucescente et mesurant en moyenne d'environ 9cm à 40cm de hauteur. Sa tige est dressée, striée et à nombreux rameaux étalés. Ses feuilles pétiolées sont s'arrangées de deux façons. Les feuilles inférieures possèdent de 3 à 5 segments très rapprochées, étroit et trifide et les postérieures sont découpées en lanières capillaires paraissant verticillées (figure 02) (Benoit et Bock, 2016).

Ses fleurs sont en inflorescence de couleur blanche sont regroupées en petite ombelles, composées de 8 a 15 rayons capillaires trèsinégaux (**Benoit et Bock, 2016**). Elle est caractérisée par un cycle dynamique tardif allant de mois de mai au mois de juillet. Les fruits sont des diakenes, gris brunatres, petits de longueur inferieure à 1 mm, côtelés de forme ovoide. Recouvert de poils épais. Sesgrainspetits, ovales, striées, courbées et gris vert. Ses racines sont aussi grêles et pivotantes. Les grains une fois mures sont récoltes, séchées et battues.

Ammoïdesverticillataest une plante très odorante, elle est fortement aromatique et piquante, son odeur (semble authymol) est très agréable mais très diffusible et intense ;

fortement balsamique, persistante memeapres la dessiccation (**Benoit et Bock, 2016**). Elle est odeur est caractéristique du thymol et un gout qui rappelle beaucoup celui du thym.

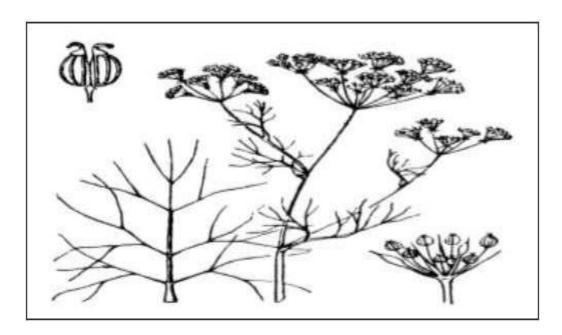


Figure 2:Description d'Ammoides verticillata (Desf.) Briq (Benoît, 2012).

#### 5. Systématique de la plante

Ammoidesverticillataappartientà la famille des Apiacees. C'est une famille trèsabondanteelle comprend plus de 3000 espèces avec 55genres représentes en Algérie. Le genre Ammoides comprend deux espèces: Ammoides verticillata (plante annuelle) et Ammoide satlantica (plante bisannuelle) D'après Benoit et al, (2016) l'Ammoides verticillata été classée suivant le tableau 01:

Tableau 1: Classification systématique de l'Ammoides verticillata (Benoit et al, 2016).

Embranchement	Phanérogames
S.embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
S.classe	Dialypétales
Série	Calciflores
Ordre	Ombellales
Famille	Apiacées (Ombellifères)
Genre	AmmoidesouPtychotis
Espèce	AmmoidesVerticillata

#### 6. Composition chimique

Les plantes possèdent des métabolites dits 'secondaires' par opposition aux métabolites 'primaires' que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent (**Krief, 2003**). Les résultats du screening phytochimique confirment la richesse de cette plante en composés terpéniques (saponosides, stéroïdes, stérols, triterpènes et huiles essentielles), en composés azotés (alcaloïdes), ainsi qu'en antioxydants (caroténoïdes) et en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, flavonoïdes libres (flavones), coumarines, anthocyanes et quinones libres) (**Daira et al, 2016**)

#### 7. Propriétés et Utilisation

La plante Nounkha et son HE extrait par entrainement à la vapeur d'eau ou par d'autres méthodes s'utilisent en alimentation, en médicine et dans divers industries.

#### 7.1. Usage culinaire

C'est une épice utilisée en Inde, surtout dans les plats végétariens. On peut notamment l'utiliser dans des hors-d'œuvre, dans des plats de haricots, ainsi que pour l'assaisonnement des sauces et des potages. D'une manière générale en Asie, elle est surtout utilisée comme aromate dans les préparations culinaires (légumes cuits, pains, ainsi que dans les pâtisseries). (Denissew, 1993) En Ethiopie, les fruits servent à l'aromatisation du pain et à la préparation de boisson alcoolisée locales surnommées Katikala. En Algérie les feuilles et les fleurs sont utilisées comme condiment dans les préparations culinaires comme par exemple : la soupe d'escargot (Ashraf et Orooj, 2006).

#### 7.2. Usage thérapeutique

La plante Ammoidesverticillata est largement utilisée pour prévenir et guérir diverses maladies. Un nombre élevé de propriétés médicinales et thérapeutiques des différentes parties de la plante a été décrit. Elle est surtout utilisée pour soigner les problèmes gastriques. Ainsi, les graines de la plante montrent plusieurs effets thérapeutiques à savoir : diurétique, analgésique, carminatif, antidiarrhrétique, antihistaminique, fébrifuge, vermifuge, et anti-asthmatique. (Avesina, 1985). A titre indicatif, nous exposons dans ce qui suit quelques exemples de la mise en évidence de ses multiples et nombreuses propriétés. Ainsi, des expériences effectuées par (Kalpana et al, 2001) ont permis de montrer l'influence de diverses épices entre autres Ammoides verticillata sur la sécrétion des acides biliaires. On note

une augmentation de la sécrétion des acides biliaires chez de jeunes rats ; ce qui explique l'action stimulante digestive de cette épice.

Son huile essentielle a montré des caractéristiques antimycotoxigéniques (Rasooli et al, 2008) et des propriétés anti-stress (Ashraf et Orooj, 2006).

L'enquête thérapeutique de (**Felidj** *et al*, **2010**), réalisée auprès des herboristes et des gens campagne de la région de Tlemcen, confirme les avancements des chercheurs précédents. Les informations qu'il a pu recueillir sont résumées dans le Tableau 02.

Tableau02: Enquête thérapeutique d'Ammoidesverticillata (Felidj et al, 2010)

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi
Plante entière	Fièvre	Inhalation
	Rhumes et grippes Problèmes respiratoire	Inhalation/infusion citronnée Inhalation ou infusion
	Infections rénaux	Infusion
	Parasites intestinales	Infusion ou poudre miellée
	Cycles douloureux	Infusion
	Antispasmodique	Infusion
	Laxatif	Infusion
	Migraines et Sinusites	
	Boisson	
	Rafraîchissante	
Feuilles	Condiment culinaire	Sauces
		Soupes
		Conservateur d'aliment
		Confit (antifongique)
	Abcès et Furoncles	Cataplasme
Racines	Diurétique	Décoction miellé

#### III. L'abeille domestique (Apis mellifera)

#### 1. L'abeille domestique et son origine

C'est un insecte hyménoptère et social (apidé), très sophistiqué, en constante évolution depuis son apparition au crétacé, il y a plus de cent millions d'années (Hoyet, 2005), les abeilles domestiques montrent un niveau élevé de développement social et vivent ensemble au sein d'immenses colonies permanentes dirigées par une seule reine qui pond des œufs (Bradbear, 2010). Les abeilles sont domestiquées un peu partout dans le monde (Hoyet, 2005), en constituant une ressource mondiale fantastique: elles sont essentielles pour notre environnement du fait qu'elles pollinisent les plantes à fleurs, ainsi, elles ont un impact sur l'agriculture en augmentant les rendements des semences et des fruits, et nous fournissent du miel, de la cire et d'autres produits, qui représentent des nutriments aux vertus médicinales, sources d'aliment et de revenus de valeur (Bradbear, 2010).

#### 2. Systématique (Classification)

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

Embranchement :Arthropoda.
Sous embranchement : Antennata.
Classe :Insecta.
Ordre :
Sous ordre :Apocrita.
Super famille:
Famille :Apidae.
Sous famille : Apinae.
Genre :
Espèce :

Règne:.....Animalia.

#### 3. Morphologie de l'abeille

Le corps de l'abeille est composé de trois partie principales (la tête, le thorax, l'abdomen) (**Figure 03**).

#### 3.1. La tête

La tête de l'abeille domestique est de forme ovoïde chez la reine, plus ou moins triangulaire chez l'ouvrière et arrondie chez le mâle (**Biri**, 2002). Elle contient :

- Les yeux : une paire des yeux composées qui servent à voir les longues distances et les trois yeux simples (ocelles) qui lui permette de voire tout ce qui est proche d'elle.
- Les antennes : c'est avec lesquelles l'abeille sent et goutte.
- L'appareille buccale : il est constitué par la trompe qui est entouré par une des mandibules, ainsi que la langue qui lui permet de récolter le nectar ou le miellat.

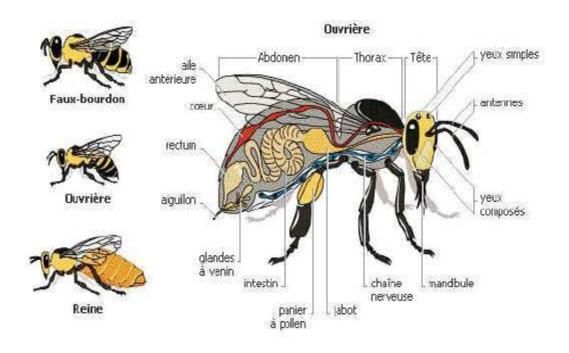


Figure03: Morphologie de l'abeille (Hennebelle, 2010 In Pelletier ,2010).

#### 3.2. Thorax

Le thorax est composé de trois anneaux, le protothoraxe, les mésothoraxe et le métathoraxe. Chaque anneaux thoracique porte une paires de pattes, alors que le mésothorax et le métathorax portent chacun une paire d'ailes (**Adjimi** *et al* ,2011).

Chaque paire de pattes est spécialisée : l'antérieure est utilisée pour nettoyer les antennes, la médiane et la postérieure sont adaptées chez l'ouvrière à la récolte du pollen dans une corbeille (Ravazzi ,2007).

#### 3.3. L'abdomen

L'abdomen de l'abeille domestique est composé de sept anneaux interférés. Il renferme le jabot (poche à miel) et le tube digestif, le système respiratoire et circulatoire, ainsi que l'appareil de reproduction et le dard avec son venin (**Zambou** ,2009) .L'abdomen comporte aussi les différents glandes (Circuses et Nassanov) qui sont présentes seulement chez les ouvrières et les glandes de mâchoire qui sont très développer chez les reines pour la production des phéromones (**Adjimiet** *al* 2011).

#### 4. La répartition géographique de l'abeille

#### 4.1. Dans le monde

Au sein de l'espèce *Apis mellifera*, on compte environ 26 sous-espèces ou races (dont le nombre est également discutable), identifiés par leurs caractères morphologiques, comportementaux et par leur aire de répartition (**Christophe R** *et al*, **2015**). En 1988 dans son livre, RUTTNER détermine que les sous-espèces d'abeilles peuvent être classées en 4 lignées évolutives principales (**Hardy**, **2012**) (**figure 04**) :

- la lignée M, présente en Europe occidentale et en Scandinavie
- la lignée C, présente en Europe centrale et Europe de l'Est
- la lignée O, présente en Asie
- la lignée A, présente en Afrique

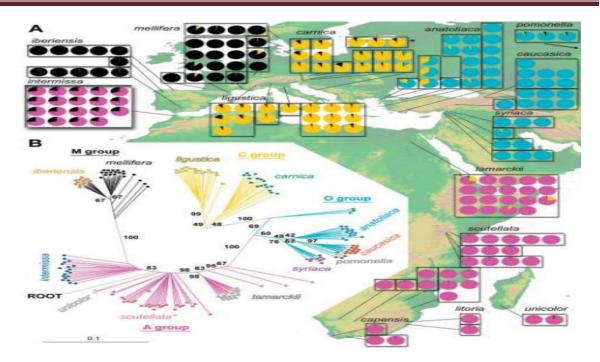


Figure 04:Tendances géographiques et temporelles de ladiversification (Winfield&Muon Christine, 2006)

#### 4.2. En Algérie

Il existe deux sous espèces en Algérie *Apis mellifera* intermissa et *Apis mellifera* sahariensis (**Figure 05**).

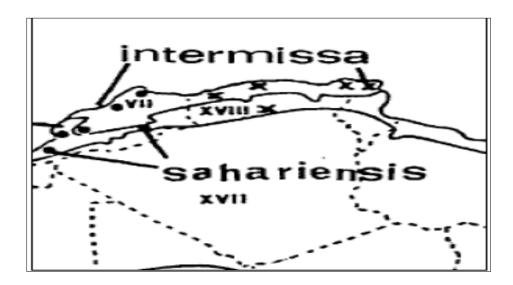


Figure 05:La localisation d'apis mellifera en Algérie (Lobreau-Callen et Damblon, 1994)

#### 4.2.1. Apis mellifera intermissa (Buttel-Reepen, 1906)

Dite aussi abeille tellienne, c'est une race d'abeilles mellifères assez grosses. Les populations de cette race sont situées entre l'Atlas et la Méditerranée au nord, la côte

atlantique à l'ouest. Elle est en position intermédiaire entre les abeilles tropicales africaines et les races européennes. Son exosquelette est d'un noir brillant et sa taille plus petite qu'ApismelliferaetApis mellifera carnica. Généralement, plus de 100 cellules royales sont construites durant la période d'essaimage et plusieurs reines vierges peuvent coexister jusqu'à la fécondation de l'une d'elles, observation qui est faite dans d'autres races méditerranéennes (Fayet, 2013). L'origine de l'abeille tellienne Apis mellifera intermissa (Buttel-Reepen 1906) est la Libye, la Tunisie, l'Algérie et le Maroc, mais elle est plus répandue en Algérie. Elle est très agressive, très nerveuse, très essaimeuse, mais aussi très féconde et très bonne récolteuse de pollen et de propolis (Ruttner, 1975).

#### 4.2.2. Apis mellifera sahariensis (Baldensperger, 1922)

Cette abeille comme son nom l'indique vit dans le désert du Maroc et de l'ouest de l'Algérie. Elle est plus petite qu'*Apis mellifera intermissa*, peu essaimeuse, fait peu de cellules royales et les reines vierges sont éliminées pendant l'essaimage. Par ailleurs, la colonie n'est pas très défensive bien qu'un peu nerveuse (**Fayet**, **2013**).

#### 5. Les différents castes d'abeille domestique

Le terme de caste est habituellement utilisé pour décrire les groupes d'individus déterminés en fonction de leur statut reproducteur. Chez l'abeille domestique, trois castes cohabitent (**figure 06**) (**Bordier, 2017**) :

#### 5.1. La reine

Possède un baguage génétique complet, la seule femelle reproductrice, Nourrie à la gelée royale, elle prend son vol nuptial. Elle se fait ainsi féconder par un ou plusieurs mâles jusqu'à ce que sa spermathèque soit pleine. Elle est l'individu le plus important et unique dans la colonie (**Hummel R, 2018**).

#### 5.2. Les ouvrières stériles

Au cours de leur vie, les ouvrières peuvent s'engager dans différentes fonctions afin d'assurer le développement de la colonie (Wilson, 1971). À un moment donné de leur vie, les ouvrières se spécialisent dans une tâche précise. Ainsi une seconde division du travail s'opère chez les ouvrières (Seeley, 1982). Elles sont très polyvalentes.

#### 5.3. Les mâles ou faux bourdons

C'est la troisième caste de la colonie d'abeilles (Biri et al, 2002), ils ne piquent pas. Les mâles n'apparaissent que pendant la saison des essaims et disparaissent dès que cessent les apports du miel. Ils sont expulsés de la colonie avant l'hiver. Ils possèdent un bagage génétique de moitié.

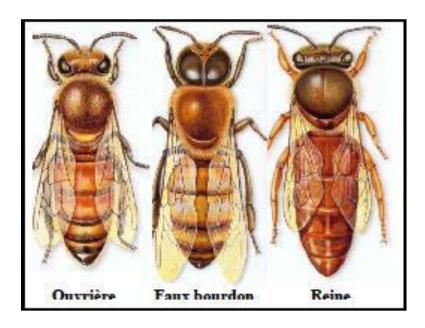


Figure 06 : Morphologie des trois castes (Clément, 2011)

#### 6. Cycle de vie des abeilles

La reine, dont le rôle est la perpétuité de l'espèce, pond plus de 2000 œufs par jour, elle en dépose un par alvéole. L'abeille est un insecte à métamorphose complète, il se passe 22 jours entre la ponte et la sortie de l'alvéole d'un adulte reproducteur complet (**Figure 07**)(**Bertrand, 2003**).



Figure 7: Différents stades de développement d'une abeille (Bertrand, 2003).

#### 7. Rôle d'Abeilles

#### 7.1. Rôle de pollinisateur

Les abeilles participent à la reproduction de plus de la moitié des espèces de plantes à fleurs (**Prost, 1990**). 80% des plantes ont absolument besoin des abeilles pour être fécondées, et sans elles, il n'y aurait plus de fruits ou de légumes (**Diemer, 1988**). Elles favorisent la diversité et l'amélioration de rendements de nombreuses plantes cultivées en quantités et en qualités.

#### 7.2. Rôle économique

En butinant les fleurs à la recherche de nectar et de pollen, l'abeille participe activement à la pollinisation de la flore sauvage tel que : l'aubépine (Crataegus oxyacantha), l'églantier (Rosa canina), le sorbier (Sorbusdomestica) mais également des plantes cultivées, favorisant ainsi leur reproduction et améliorant les récoltes (**Toullec, 2008**).

#### 7.3. Rôle de bio-indicateur

En observant la mortalité des abeilles et en détectant les résidus de pesticides, métaux lourds ou molécules radioactives dans les produits de la ruche, l'abeille domestique permet ainsi de détecter les polluants organiques et inorganiques dans son environnement (**Toullec**, **2008**). « Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années À vivre » – **Albert Einstein**.

#### 8. Maladies de l'abeille

Comme tous les êtres vivants, les abeilles sont menacées par des maladies, les plus dangereuses qui sont :

#### 8.1. Maladies du couvain

#### 8.1.1. La loque américaine

Maladie très redoutable et très répandue qui affecte le couvain (larves). Elle est provoquée par Bacillus larvae White, qui engendre des spores. Les larves sont contaminées par voie orale dès que les ouvrières leur régurgitent du miel contenant des spores de Bacillus larve. La maladie touche surtout le couvain operculé ; en cas d'infection très grave, les larves

des cellules désoperculées, les nymphes et, exceptionnellement, les larves de faux bourdon sont atteintes (Biri, 2010).

#### 8.1.2. La loque européenne

La loque européenne (Europeanfoulbrood) est une maladie infectieuse et contagieuse du couvain d'abeille, favorisée par un agent pathogène, d'origine bactérienne (Melissococcuspluton, Bacillus alvei, Bacillus laterosporus, Bacillus lavei, etc.) (**Fluri, 2003**).

#### 8.1.3. Le couvain plâtré

Nommé aussi couvain calcifié, couvain momifié ou ascosphérose. Il s'agit d'une maladie du couvain due à un champignon Ascosphera apis. Ses spores infectent le couvain ou pénètrent dans les larves à travers la cuticule. On peut les trouver dans le miel. Les larves de 2-3 jours sont infestées. La spore germe dans l'intestin moyen et le mycélium entre en compétition pour la nourriture avec la larve qui devient un amas de mycélium blanc (Adam, 2012).

#### 8.1.4. Le couvain pétrifié

L'aspergillose est une maladie très rare du couvain d'abeilles domestiques causée par plusieurs champignons du genre Aspergillus. Aspergillus flavusa été le plus souvent signalé, suivi d'A. Fumigatus, mais d'autres espèces incluant A. Nigerpeuvent tuer les abeilles mellifères. Aspergillus est capable d'infecter l'hôte par le biais de l'intestin si les spores sont ingérées; par conséquent, tout comme pour Ascosphaera apis (couvain plâtré), les larves et les adultes peuvent être infectés. La plupart des espèces d'Aspergillus produisent des aflatoxines qui pourraient être la principale cause de décès chez les abeilles mellifères souffrant d'aspergillose (Jensen et al, 2013).

#### 8.2. Maladies des adultes

#### 8.2.1. La nosémose

La nosémose est une maladie parasitaire des abeilles adultes. Elle est due à un protozoaire, *Nosema apis*, qui se développe dans le tube digestif de l'abeille au niveau de l'intestin moyen (**Barbançon**, 2003).

À l'évidence, la nosémose est responsable, dans plusieurs régions et en particulier le nord-est de la France, de mortalités et d'affaiblissements importants de beaucoup de colonies d'abeilles (**Scheiro**, **2011**).

#### 8.2.2. L'acariose

L'acariose des trachées, comme son nom l'indique, est une maladie parasitaire qui touche le système respiratoire de l'abeille domestique *Apis mellifera* et de l'abeille asiatique

Apis cerana, due à l'acarien Acarapis woodi (Alizée, 2014). Il pénètre dans les trachées des jeunes abeilles à travers les stigmates qui se trouvent dans le prothorax. Cet acarien provoque des troubles physiologiques graves telles que l'obstruction des trachées et la dégénérescence des muscles (Biri, 2010).

#### 8.3. Maladies du couvain et des adultes

#### 8.3.1. Les mycoses

Les mycoses sont des maladies dues à des champignons pathogenes.la principale mycose de l'abeille affecte le couvain. Elle est la conséquence du développement dans les larves d'Ascospahaera apis, qui provoque leur mort et l'apparition du couvain plâtre ou calcifie (Brabançons, 2006).

#### 8.3.2. Maladies parasitaire

#### 8.3.2.1. La fausse teigne

Il y a deux fausses teignes, espèces voisines de papillons, capables de parasiter les ruches oules rayons stockés. Elles ne sont pas cause de mortalité directe mais profitent del'affaiblissement des colonies pour se développer. (**Brabançons, 2006**).

#### 8.3.2.2. *Le Varroa*

Parasite habituel de l'abeille domestique ayant été véhiculé sur l'ensemble des continents par des transferts d'abeilles reproductrices ou de ruches, reste une des causes initiales ou partielles envisageables comme affaiblissant les abeilles et propageant des infections virales associées(Chauzat et al, 2010; Topolska et al, 2010; Martin et al, 2012).

### **8.3.3.** Les virus

À ce jour, une vingtaine de virus sont identifiés comme de possibles causes de maladies chez l'abeille. Ces virus subissent généralement à l'état latent dans les colonies et c'est souvent leur association avec d'autres facteurs qui déclenche des maladies virales (Brabançons, 2006).

### 9. Les ennemie

### 9.1. Les petits prédateurs

L'abeille, comme tout être vivant, a nombre d'ennemis : des prédateurs qui la chassent, mais aussi des animaux vivant en parasites au détriment de la colonie en consommant miel ou pollen, ou encore simplement des perturbateurs de la vie de la ruche (**Brabançons**, 2006). Exemple : les oiseaux (guêpier), les reptiles et les insectes (fourmis).

### 9.2. Les mammifères

Certains mammifères sont des ennemis occasionnels de l'abeille, soit par les perturbations qu'ils causent dans les colonies pendant l'hiver, soit par la consommation des abeilles ou des provisions des ruchées. (**Brabançons, 2006**). Exemple : l'ours les souris...etc.).

### VI. L'Aspergillus Niger

### 1. Généralité sur *l'Aspergillus*

Les *Aspergillus* sont des champignons microscopiques qui contaminent les récoltes dans les champs ou pendant la conservation dans les silos ou greniers. Lorsque les conditions climatiques sont favorables (**Pane** *et al*, **2011**). Il est un champignon filamenteux, cosmopolite et omniprésent trouvé dans la nature (**Rahul et Jha, 2014**). Pier Antonio Micheli (1679-1737) décrit *Aspergillus* comme l'un des 1400 genres romands plante dans son Nova planétarium genres (**Dijksterhuis et Wösten, 2013**).

Le genre Aspergillus comprend plus de 200 espèces. Environ20 espèces ont été rapportées comme agents responsables d'infections opportunistes chez homme. Parmi ceux-ci, Aspergillus fumigatusest l'espèce la plus couramment isolés, suivis par Aspergillus flavuset Aspergillus Niger. Les groupes Aspergillus clavatus, Aspergillus glaucus, Aspergillus nidulans, Aspergillus oryzae, Aspergillus terreus, Aspergillus ustus, et Aspergillus versicolorsont parmi les autres espèces moins souvent isolé sous forme d'agents pathogènes opportunistes (Rahul et Jha, 2014).

Les espèces d'Aspergillus sont parmi les champignons les plus abondants partout dans le monde. Ils ne sont pas très sélectifs en ce qui concerne les conditions de croissance abiotiques. Par exemple, ils peuvent se développer sur une large gamme de température (6-55°C) et à une humidité relativement faible. En outre, les espèces d'Aspergillus se nourrissent d'une grande variété de substrats, y compris les matières fécales animales et les tissus humains (Bleichrodt et al, 2013).

Bien quel'Aspergillus Niger, l'espèce la plus commune, soit reconnu comme opportuniste pathogène, sans spécialisation d'hôte, les autres membres de la section Nigri sont généralement considérés comme des champignons bénins. En outre, les produits élaborés par Aspergillus Nigerdétiennent le label GRAS du FDA aux Etats Unis en dépit du fait que la capacité de produire l'ochratoxine A (OTA) par cette espèce a été signalée (3 à 10%) des souches connues d'Aspergillus Niger produisent ces mycotoxines sous certaines conditions fermentatives (Mhetras et al, 2009; Masayuki &Katsuya, 2010).

### 2. Classification d'Aspergillus Niger

La classification de *l'Aspergillus Niger*(tableau 2) a été effectuée selon la base des caractères morphologiques et moléculaires (Guan et *al* ; Chabasse *et al* 2002)

Tableau 3:classificationd'AspergillusNiger (Chabasse et al, 2002)

Règne	Mycètes (Fungi)		
Embranchement	Amastigomycota		
Sous-Embranchement	Deutéromycotina		
Classe	Hyphomycetes		
Ordre	Hyphomycétales		
Famille	Dematiaceae		
Genre	Aspergillus		
Espèce	Aspergillus Niger		

### 3. Ecologies

Aspergillus Niger est plus répandu dans les climats chauds que ce soit sur le terrain et les aliments stockés. Les spores noires offrent apparemment une protection contre la lumière du soleil et irradiation UV, offrant un avantage concurrentiel dans de tels habitats.

Aspergillus est un champignon à croissance aérobie sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et la litière et sur le matériel végétal en décomposition et les fruits, les noix, les céréales et les graines oléagineuses sont également des sources fréquentes. (Schuster et al, 2002 ; Pitt et Hocking, 2009).

Il peut également contaminer la viande et les œufs, entraînant une détérioration progressive; Même s'il est considéré comme un contaminant inoffensif omniprésent, *Aspergillus Niger* peut dans des circonstances exceptionnelles, causer des maladies opportunistes chez l'homme (**Heinemann**, 2004).

### 4. Morphologie

Les *Aspergillus* sont caractérisés par la présence de longs filaments perpendiculaires (stipes) aux hyphes végétatifs. Les stipes se terminent par une vésicule supportant les cellules de la conidiogenèse qui s'appelle les phialides (**figure 08**) (**Leyral et Vierling, 2007**).

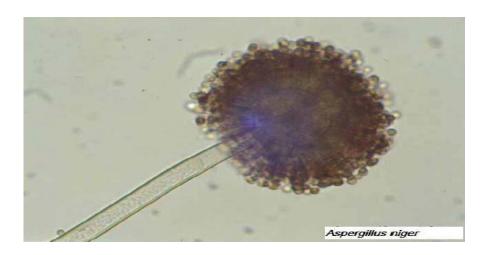


Figure 08: La structure d'Aspergillus Niger (Kiran, 2016).

### 4.1. Aspect macroscopique

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques (géloses au malt et Sabourand). La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C, mais l'A. Niger peut se développer jusqu'à 42°C. Les colonies d'A. Niger sont granuleuses, blanches au début, puis jaunâtres et à maturité elles deviennent noires (Bensmail, 2012).

### 4.2. Aspect microscopique

Les têtes conidiennes, bisériées et radiées, sont disposées en plusieurs colonnes brunâtres à noires. Les conidiophores sont longs atteignant 1,5-3 mm, lisses à stipes non cloisonnés, hyalins ou brunâtres dans leur moitié supérieure, formés d'une cellule courte appelée cellule podale ( footcell) avec un hyphe fertile. Les vésicules (50-70μm) sont globuleuses avec des têtes aspergillaires hémisphériques volumineuses, à panache radié. Les phialides (7-10 x 3-3,5 μm) sont portées par des métules brunâtres, de dimensions variables (10-15μm). Les conidies sont habituellement globuleuses, parfois légèrement aplaties de couleur brunâtre et qui mesurent 3,5 à 4,5 μm; parfois jusqu'à 6 μm de diamètre(**Figure09**)(**Bensmail, 2012**).

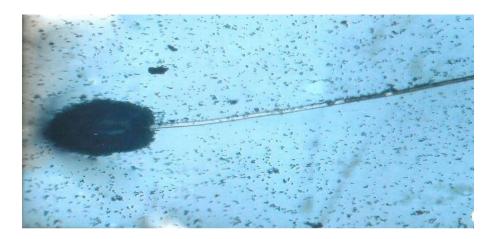


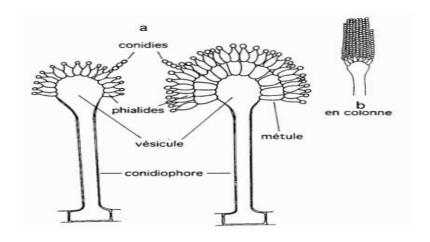
Figure 9: Aspect microscopique (hyphe et spores) d'Aspergillus Niger(Benazir et al, 2011).

### 5. Habitat

A. Nigerest l'un des champignons les plus communs dans l'environnement humain, qui vive en saprobiose (Ward et al, 2006). Il est très répondu dans les zones sombres et humides, les sols, le compost, pousse à la surface des matières organiques en décomposition, des denrées alimentaires, des sous-produits agricoles surtout les céréales et ses dérivés (son de blé, son de riz, bagasse...) et de nombreux autres substrats (Pasqualotto, 2010).

### 6. Reproduction

Aspergillus Niger contient des processus sexuels et non sexuels pour multiplier les sorts. Le cycle asexuel est le principal moyen de dispersion cellulaire et de protection du génome inné dans des conditions défavorables, et la production de métabolites secondaires est souvent associée à ce processus de développement. Les spores produisent des conidies, contenant des germes et des noyaux asexués mono-numérotés. La croissance végétale commence avec la germination de la spore, avec la formation de fils tubulaires, qui se développent poliment en élargissant le sommet et la ramification pour former un réseau de champignons, qui fournissent des nutriments de l'environnement. Le cycle sexuel commence par la différenciation des grappes de percées végétales cellulaires ou bromodiques, qui se développent davantage en cleistothecia, qui contient douteux. Les ascospores sont produites par division réductrice. Certains gènes liés à la reproduction sexuelle ont été reproduits (Ward et coll., 2006).



a) Organisation générale. b) Disposition en colonne

Figure 10:Structure de l'appareil conidien des Aspergillus. (Jesus & Cordova, 1999).

### 7. Toxicité et pouvoir pathogène

Aspergillus Niger peut provoquer chez le sujet non immunodéprimé des aspergilloses, des otites ou des sinusites. Elle est responsable chez l'immunodéprimé des infections cutanées, pulmonaires ou généralisées, mais plus rarement des aspergilloses ou des otites. Certaines souches produisent de l'acide oxalique, des malformées et seraient à l'origine de toxicoses constatées chez les porcins et les lapins (convulsions, paralysies) (Sevastianoset al, 2006). Aussi, elles peuvent produire d'Ochratoxine A (l'OTA) (Alborchetal, 2011, Muñoz et al,2011). L'OTA peut provoquer le cancer après l'association avec d'autres substances (Estibane et al, 2006). Cette molécule est enréaliténé phrotoxique, tératogène et immunosuppressive (Hart and Shears, 1999; Accensi et al, 2004; Blumenthal, 2004).

### 8. Pathogénèse sur les abeilles

L'aspergillose est une maladie très rare du couvain d'abeilles domestiques causée par plusieurs champignons du genre *Aspergillus*. *Aspergillus flavus*a été le plus souvent signalé, suivi d'A. *Fumigatus*, mais d'autres espèces incluant *A. Niger* peuvent tuer les abeilles mellifères. Aspergillus est capable d'infecter l'hôte par le biais de l'intestin si les spores sont ingérées; par conséquent, tout comme pour *Ascosphaera apis* (couvain plâtré), les larves et les adultes peuvent être infectés. La plupart des espèces d'*Aspergillus* produisent des aflatoxines

qui pourraient être la principale cause de décès chez les abeilles mellifères souffrant d'aspergillose (Jensen et al, 2013).

# Chapitre II: Matériel Et Méthodes

### Partie I: Zone d'étude

### 1. Présentation de la zone d'étude

La wilaya de Tissemsilt, née du découpage territorial de 1984, a été tracée autour de L'imposant massif de l'Ouarsenis qui s'étend sur plus de la moitié nord de son territoire L'ensemble des conditions de vie est tributaire de la géographie physique le relief et Partant la géologie(Figure 11), l'hydrographie, le climat déterminent le régime des eaux et expliquent, dans une large mesure, l'évolution démographique, les conditions de vie, les rapports humains, l'importance de l'agriculture et de l'élevage, dans cette wilaya. Il faut donc s'arrêter quelque peu sur la situation générale de la wilaya de Tissemsilt, son relief, sa géologie, son hydrographie, son climat, sa pédologie et sa végétation, afin de pouvoir dresser l'état des lieux en matière de ressources en eau et dessiner les perspectives en ce domaine. (DRET.)



Figure 11: Image satellitaire de La wilaya de Tissemsilt (Google Maps).

### 2. Situation géographique et administrative de la wilaya de TISSEMSILT

La wilaya de Tissemsilt est située au Nord de l'équateur entre 30 et 32° de latitudes et 3° de longitude, est avec un décalage de 12 minutes par rapport au fuseau horaire universel. Elle est s'étend sur une superficie de 3151,37 km². (**Andi, 2013**).

Le Chef-lieu de la Wilaya est situé à 220 km à l'Ouest de la capitale, Alger, et à 300 km d'Oran, bornée par plusieurs wilayas (**Figure12**) à savoir:

- ♣ Au nord, par les wilayas d'Ain Defla et Chlef.
- ♣ À l'est par la wilaya de Médéa.
- ♣ À l'ouest, par la wilaya de Relizane.
- ♣ Au sud, par la wilaya de Tiaret et Djelfa. (Andi, 2013).

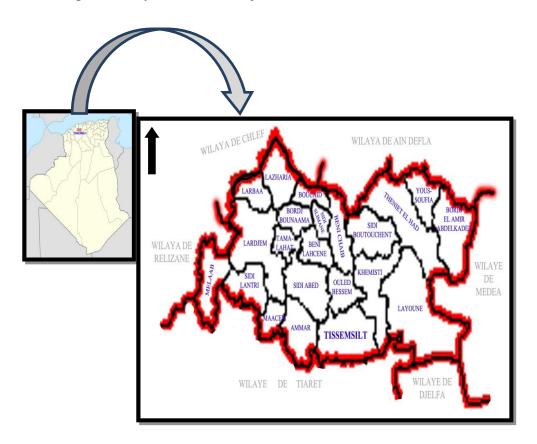


Figure 12: Situation géographique de la wilaya de TISSEMSILT (Andi, 2013).

### 3. Principaux indicateurs de la wilaya

- ♣ Superficie de la wilaya : 3151,37 Km².
- ♣ Superficie forestière: 60.714 Has (19 %).
- **♣** Population totale : **299.910 habitants dont 60 % de ruraux.**

**♣** Population active : 77.976habitants.

♣ Nombres des communes rurales : 16/22.

### 4. La topographie

C'est une wilaya à vocation exclusivement agropastorale nichée en pleins Haut-Plateaux dans leur partie occidentale.

Le territoire de la wilaya est constitué des zones montagneuses qui représentent 65 % de sa surface globale, le reste est occupé par les hauts plateaux et dans une moindre mesure les steppes (**Andi**, **2013**). Ces terres sont divisées comme suit :

✓ Une zone montagneuse avec un taux de 65%.

✓ Une zone des hautes plaines avec un taux de 25%

✓ Une zone steppique occupant 10% de la superficie globale de la wilaya.

Le plus haut sommet est cartographie au niveau de Sidi Amar (monts de l'Ouarsenis) avec une de 1983m.

Alors que le niveau le plus bas est enregistré à Koudiet El Yachine (au Nord d'El Azharia) avec près de 389m d'altitude. (Andi, 2013)Tissemsilt abrite le Parc national de ThenietEl-Haâd, connu par sa forêt de cèdres, En effet, le domaine forestier couvre 20 % du territoire de la wilaya (Aniref, 2011).

### 5. Géologie

La géologie de la région de Tissemsilt s'inscrit dans le cadre de l'évolution de la chaîne tellienne et en particulier celle du massif de l'Ouarsenis.

Cet ensemble à structure complexe est formé de 3 sous ensembles :

- Au Nord, la zone interne du socle du djebel Doui constitué de formations de l'ère paléozoïque.
- Au centre, la zone externe comprenant des unités diversifiées et fortement charriées dont l'âge de sédimentation va du Trias jusqu'à l'Oligocène.

Au sud, la bordure sud tellienne représentée par un faciès de remplissage de zones dépressionnaires et subsidences. Il s'agit de formations du Miocène inférieur, du Pliocène et du Quaternaire. (**Det, 2019**).

### 6. Climatologie de la wilaya

La région de TISSEMSILT fait partie de l'étage bioclimatique semi-aride, particularité du climat méditerranéen, et il a un hiver froid humide et un été chaud et sec, la température moyenne hivernale est comprise entre 0 est 6 C° et celle estivale oscille entre 32 C et 40 C° quant à la pluviosité moyenne annuelle, elle oscille entre 300 et 600mm de pluies, avec cependant un pic de 800mm enregistrée aux monts de l'Ouarsenis ou on note également la chute de neige dont la hauteur moyenne se situe dans une fourchette comprise entre 0,5 et 50 cm d'épaisseur, accompagnée parfois de verglas. (Aniref, 2011; Andi, 2013).

### Diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN

D'après le diagramme ombrothermique ci-dessous, les mois secs sont-ils : est au début de mai jusqu'à mi-septembre, (La température plus élevé que la précipitation), et la période humide du mois d'octobre jusqu'à Avril.

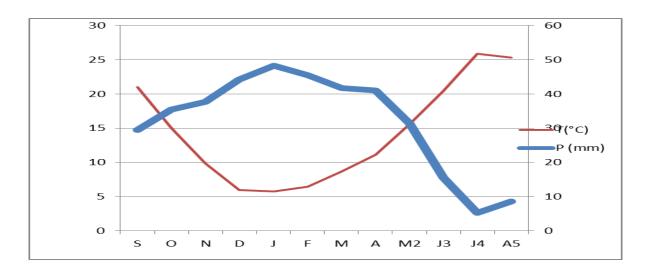


Figure 13: diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tissemsilt.

### 6.1. Température

La température est un des éléments fondamentaux dans la détermination du caractère Climatique d'une région, et aussi un facteur nécessaire à l'apport de l'énergie pour les plantes. Il affectant directement les processus biologiques et chimiques dans la biosphère.

Les données Existantes sont celles de (P. SELTZER1946) et celles qui ont été utilisées dans l'étude (Bneder., 2009) Les écarts de températures ainsi que les amplitudes thermiques sont importants, la moyenne du mois le plus chaud se situe à 36°C (DSAT).(Tableau04)

**Tableau 4:**Répartition mensuelle de la température (2006-2016).

	Jan	Fév.	Mar	Avri	Ma	Juin	Juill	Aou	Sep	Oct	No	Déc
Mois/T°			S	l	i		y	t	t		v	•
T min	1,0	1,4	3,0	5,6	8,8	14,7	17,5	17,5	14,0	10,	5,2	2,0
T max	12, 1	12,2	15,7	19,9	24, 8	30,7	35,9	35,1	29,1	24,	16, 3	12,7
Moyenne	6,5	6,8	9,3	12,7	16, 8	22,7	26,7	26,3	21,5	17, 3	10, 7	7,3

Source: SMK.

### 6.2. Pluviométrie

La zone d'étude se caractérise principalement par un climat continental à hiver froid humide et à été chaud et sec. La pluviométrie est décroissante du nord et d'ouest en est.

- ✓ 450 mm sur les piémonts et le centre (les plaines).
- ✓ 300 **mm** et moins au sud.

Il pleut entre 350 mm et 450 mm pendant 65 jours durant une année normale dont la concentration est située entre le mois novembre et févriers, il neige en moyenne 3 à 5 jours par an. (**Figure 14**)

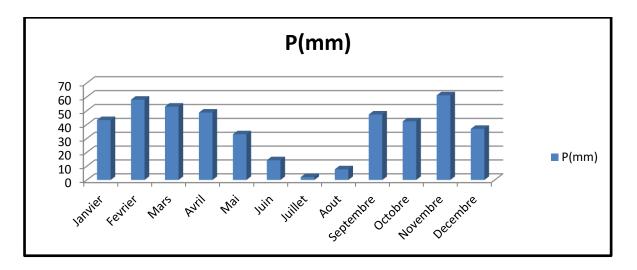


Figure 14: Diagramme représentatif des précipitations mensuelles (2006-2016) (SMK)

### **6.3.** Vent

La ville de Tissemsilt est dominée par les vents nord –ouest dans la période hivernale et les vents sud –oust qui caractérisent la période estivale .ils sont violents au printemps et en automne leur vitesse moyenne 4,2m/s, la vitesse maximale est de 26,80m/s. (**DSAT**).

### 7. La population de la commune de TISSEMSILT

La population communale de TISSEMSILT est environ 90 141 habitants en 2017. Elle est dépassée de 294 476 habitants en 2008 à 300 000 habitants en 2017 dans toute la wilaya.

La population ayant un âge inférieur à 15 ans représentant 29% du total de la population, constitue dans les années à venir une importante ressource humaine (Andi.2013)

### Partie II: Partie expérimentale

### I. Matériels et Méthodes

### 1. Introduction

Nous avons évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle de la plante *Ammoides* verticillata sur l'Aspergillus Niger qui attaque l'abeille domestique (Apis mellifera). Notre étude est divisée en deux parties :

Nous avons fait l'extraction des huiles essentielles de l'*Ammoides verticillata* au niveau de l'université de Tlemcen. Et nous avons effectué la partie de l'activité antifongique au niveau de laboratoire du Département des Sciences de la Nature et de la Vie (Faculté des Sciences et de la Technologie) de l'Université de Tissemsilt.

### 2. Récolte des insectes infectés

Nous avons récolté des larves des abeilles (*Apis mellifera*) infecté par *l'Aspergillus Niger* de la région de Tissemsilt. Nous avons fait l'échantillonnage des abeilles infectés avec une manière subjective (non probabiliste). (**Figure 15**)



Figure 15: Larves infectées par *l'Aspergillus Niger* dans le milieu Sabouraud (originale)

### 3. Isolement et identification de l'Aspergillus Niger

### 3.1. Isolement des champignons

Les insectes infectés par l'*Aspergillus Niger* ont été déposés dans des boites de Pétri contenant un milieu Sabourand dextrose Agar. Les boites sont incubées à 28°C pendant 5 à 7 jours.

### 3.2. Milieu de culture

Le milieu de culture utilisé pour l'isolement de la souche fongique (*Aspergillus Niger*), Le milieu de culture Sabouraud dextrose Agar est un milieu très favorable pour le développement de Champignon notamment ceux du genre *Aspergillus Niger* pour sa richesse en éléments nutritifs particulièrement le glucose et l'amidon. (**Devet P., Rouxel F. ,1997**).

La préparation de milieu de culture nécessite le mélange de 65g de poudre de Sabouraud Dextrose Agar déshydraté avec 1 litre de l'eau distillée.

Le mélange est placé sur une plaque chauffante agitateur, une fois que le milieu atteint l'ébullition, le milieu est coulé dans des flacons et il est mis dans un autoclave pendant une durée de 20 minutes à 120°C pour la stérilisation.





Figure 16 : Les étapes de préparation du milieu de culture (originale)

### 3.3. Purification

La purification a été réalisée par des repiquages successifs d'une colonie de l'*Aspergillus Niger*, obtenue après la première mise en culture dans des boites contenant le milieu de culture Sabouraud dextrose Agar, à une température de 28°C pendant 3 à 7 jours, jusqu'à l'obtention des colonies pures.

### 3.4. Méthode d'identification

La souche fongique a été identifiée en utilisant des examens et des observations macroscopiques et microscopiques.

### 3.4.1. Examen macroscopique

L'étude macroscopique a été réalisée par l'observation à l'œil nu, des caractères culturaux (Aspect de la colonie, couleur, revers, et la vitesse de la croissance).

### 3.4.2. Aspect macroscopique d'Aspergillus Niger

Après la purification d'Aspergillus Niger sur un milieu spécifique dans des boites de Pétri, les colonies apparaissent sous formes granuleuses, de couleur blanche puis jaune. Ensuite elles deviennent noirâtres avec une pigmentation jaune pâle au verso de la boite de Pétri (Figure 17). Les sclérotes sont parfois différenciés, sont crème à chamois foncé au début, puis virent au chamois vinacé .Selon (Alonso et al, 1993et Palacio et al, 2007), le développement de pigment jaune-brun, l'exsudat, la laine huileuse et l'effondrement du mycélium sont des indicateurs du vieillissement.



Figure 17: Aspect macroscopique d'Aspergillus Niger

### 3.4.3. Examen microscopique

### 3.4.3.1. Préparation microscopique

Au cours de notre travail, nous avons adopté la méthode de scotch dont les étapes se présentent comme suit :

1-sur une lame stérile de verre, déposer 1 goutte de bleu de Méthylène

2-prélever, à l'aide d'un morceau de scotch transparent, le mucor directement dans la boite de pétrie

3-coller ce morceau de scotch directement sur la lame

**4-**observer au microscope à l'objectif x 40

### 3.4.3.2 Conservation

Nous avons conservé les échantillons de l'*Aspergillus Niger* dans les boites de pétries dans un réfrigérant de 4°C.

### 4. Choix des plantes pour l'extraction

L'Ammoides verticillata a été collectée dans la région de Tlemcen. La plante étudiée a été choisie essentiellement sur la base de leur intérêt thérapeutique et les activités de leurs essences végétales.

### 4.1. L'extraction de l'huile essentielle

Une quantité de 75 g de matière végétale est transvasée dans un ballon de 1 litre auquel un volume de 750 ml d'eau distillée est ajouté et l'hydro distillation se fait, Pendant 3 heures. L'eau est portée à ébullition, la vapeur d'eau entraîne les molécules volatiles qui se condensent dans un réfrigérant et le mélange eau-huile est recueilli dans un ballon de 250 ml. La décantation se fait dans une ampoule à décanter d'un litre dans laquelle le mélange se sépare en deux phases non miscibles par la différence de leur densité. Une phase aqueuse (inférieure) et une phase huileuse (supérieure).cette opération dure entre 4 à 5 heures à partir du début de l'ébullition. (**Figure 18**)



Figure 18: Montage d'hydrodistillation type Clevenger (originale)

### 4.2. Conservation des huiles essentielles

Pour éviter tout risque de dégradation de l'huile essentielle due à l'action de l'air et de la lumière, nos échantillons étaient conservés au réfrigérateur (4-6°C) dans des flacons bruns bien fermés.(**Figure19**)

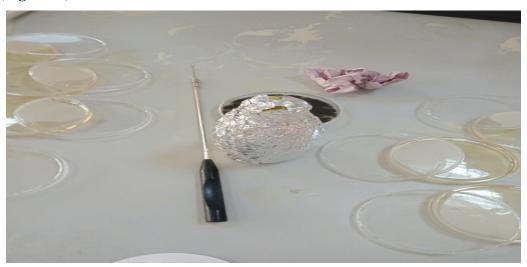


Figure 19 : flacon brun bien fermé pour la conservation d'HE (originale)

### 5. Test de l'efficacité d HE sur Aspergillus

### 5.1. Étude mycologique

## 5.1.1. Test d'efficacité d'HE d'Ammoide verticillata sur l'Aspergillus Niger par la méthode de diffusion en puits

Couler aseptiquement le milieu de culture Sabouraud Dextrose Agar en surfusion dans les boites de pétri Laisse refroidir et solidifier sur la paillasse, puis nous avons ensemencé l'*Aspergillus Niger* isolé à l'aide d'une anse de platine dans les boite de Pétri. (**Lamamra**, **2010**). (**Figure 20**)

Creuser un puits de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pipette Pasteur stérile dans le centre de boite de pétri. Dans le but d'éviter la diffusion d'HE sous Le milieu, après nous avons rempli à l'aide d'une micropipette réglable les puits avec déférentes concentrations en trois répétitions pour chaque dose (00µL.4µL.8µL.12µL.16µL.20 µL)

L'incubation des boites est faite à 28 °C pendant 5 à 7 jours. (Figure 21)

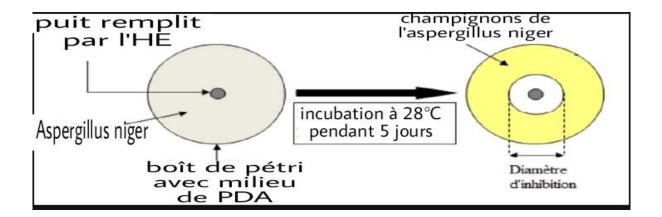


Figure 20: Principe de la méthode de diffusion en puits.

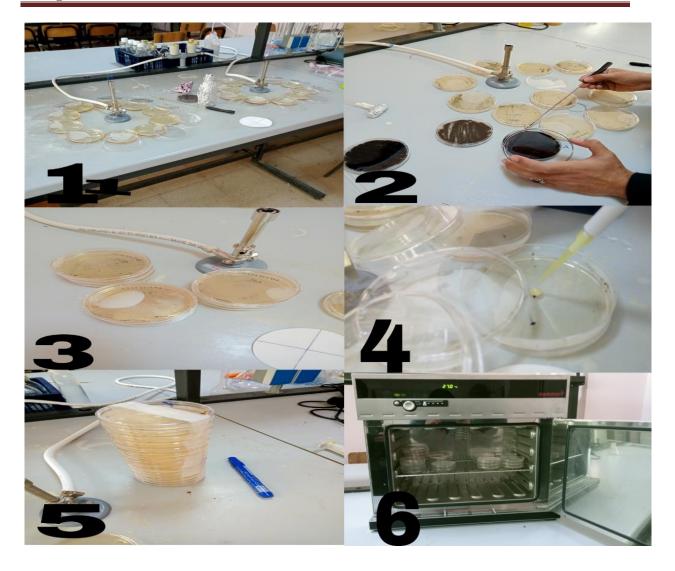


Figure 21 : Mode opératoire (originale)

### 5.1.2. Lecture des résultats (Zone d'inhibition)

Nous avons calculé la superficie de la zone d'inhibition après le calcul des deux diamètres sur deux axes perpendiculaires à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm).

(Lamamra, 2010). (Figure 22)

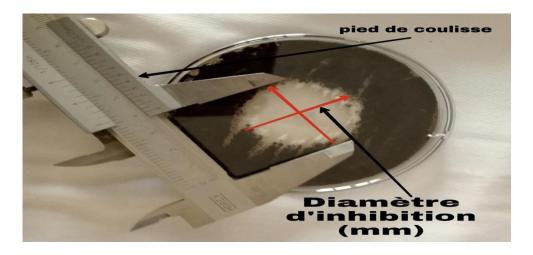


Figure 22: Lecture des résultats (Zone d'inhibition) (originale)

# Chapitre III: Résultats Et Discussion

### I. Résultats et Discussion

### 1. Résultats

L'utilisation des fongicides s'avère être une pratique ancestrale en Afrique. En effet, de nombreuses plantes sont connues et utilisées pour leurs activités biocides contre un large éventail de ravageurs (Young, 2002). Ils peuvent être utilisés comme extraits de plantes foliaires (Lis-Balchin et al, 1997); (Sasaki et al, 2002) comme l'Ammoides verticillata. Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent la croissance des champignons et des levures.

### 1.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite

L'examen organoleptique de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata consiste en un essai olfactif ; toutefois, il est nécessaire de décrire l'aspect de cette huileet de sa saveur (Abbes, 2014; Hachemi et Hamzi, 2018). (Tableau 05)

Tableau 5: Caractères organoleptiques de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata

Couleur	Jaune clair
Aspect	Liquide
Odeur	Aromatique
Saveur	FortementPiquant

### 1.2. Identification de la souche fongique

Le matériel fongique a été représenté par *l'Aspergillus Niger*.

Sur le plan identification des moisissures on s'est basé sur l'observation macroscopique du mycélium (couleur, texture, taille de colonies) et microscopique des structure reproductrices la forme des spores (**Figure 23**) (**Pitt et Hoking, 1999**). Tenant compte de tous ces critères l'observation sous microscope nous a permis d'identifier et isoler l'*Aspergillus Niger* a partir de larves issues d'une colonie infectée.

Pour identifier ce genre, nous avons étudié les caractères macroscopiques et microscopiques de ce dernier (**Tableau 05**).

Tableau 6: Caractères macroscopiques et microscopiques de champignon isolé.

Genre	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	
(Aspergillus Niger)	Les colonies ont une croissance	Les hyphes sont cloisonnés ;	
	Rapide (3,5 jours); avec une	Les conidies sont brunes à	
	couleur blanche, cotonneuse au départ, devenant poudreuse avec	noires et globuleuses ;	
	l'apparition de spores noires;	Les conidiophores sont longs	
	Le revers de la boite est jaune	formant à l'apex une vésicule	
	pâle.	globuleuse;	

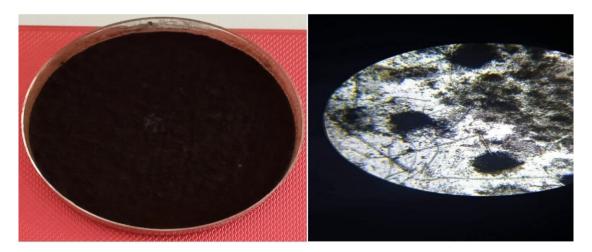


Figure 23: Aspects macroscopique et microscopique d'Aspergillus Niger

(G X 40), (Originale)

# 1.3. L'activité antifongique des huiles essentielles de l'*Ammoides verticillata* sur l'*Aspergillus Niger*

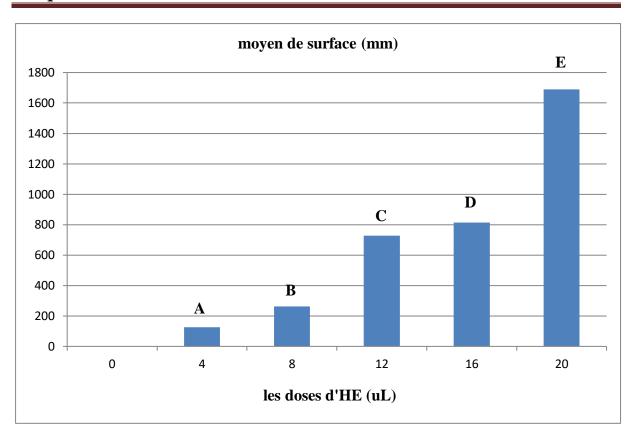
L'activité antifongique des huiles essentielles a été évaluée contre le champignon de l'*Aspergillus Niger* qui attaque les larves des abeilles, leur puissance a été évaluée par la présence ou l'absence des pourcentages d'inhibition.

Les résultats du test de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Ammoides* verticillata sont montrés sur (la Figure 24) suivant.



**Figure 24 :**L'activité antifongique des huiles essentielles de l'*Ammoides verticillata* sur l'*Aspergillus Niger* 

La figure suivante (**Figure 25**) explique les surfaces des zones d'inhibition, nous avons remarqué l'augmentation des zones d'inhibition avec l'augmentation des doses. La surface d'inhibition pour la dose (04μl) est de126, 52 mm, pour la deuxième dose (08μL) nous avons marqué une surface d'inhibition plus grande (263,43mm). Pour la dose 12μL nous avons marqué une zone d'inhibition de 727,83 mm, et pour la dose 16μL nous avons remarqué une surface de 813,46mm, et nous avons observé la surface d'inhibition la plus grande (1688,4 mm) avec la dose 20μl.



**Figure 25:** Surface d'inhibition de *l'Aspergillus Niger* par rapport aux doses de l'huile essentielle d'A. *Verticillata* utilisées.

Selon les zones d'inhibition nous avons calculé les taux d'inhibition de la souche de *l'Aspergillus Niger* dans les boites de pétrie par rapport aux doses de l'huile essentielle utilisées.

Nous avons remarqué un taux d'inhibition de 1,99% avec la concentration 4,00 ; pour la concentration 8 le taux d'inhibition atteint 4,14%, Avec l'augmentation des concentrations la mortalité atteint 11,44% pour la concentration 12 ; 12,79% pour la concentration de 16,00 et 26,55% pour la concentration 20,00. Cependant nous n'avons remarqué aucune zone d'inhibition pour les Témoin (Tableau 06).

Tableau 7: Moyennes des taux d'inhibition

oses			Statistiques	Erreur standard
Témoin	Moyenne du taux d'inhib	Moyenne du taux d'inhibition (%)		
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	0,00	
	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	0,00	
4,00	Moyenne du taux d'inhib	oition (%)	1,99	0,13
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	1,19	
95 % pour la	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	2,78	
8,00	,00 Moyenne du taux d'inhibition (%)		4,14	0,78
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	0,77	
	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	7,51	
12,00	Moyenne du taux d'inhib	ition (%)	11,44	1,40
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	5,41	
	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	17,46	
16,00	Moyenne du taux d'inhibition (%)		12,79	0,69
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	9,79	
	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	15,78	
20,00 M	Moyenne du taux d'inhib	Moyenne du taux d'inhibition (%)		
	Intervalle de confiance à	Borne inférieure	19,64	
	95 % pour la moyenne	Borne supérieure	33,45	

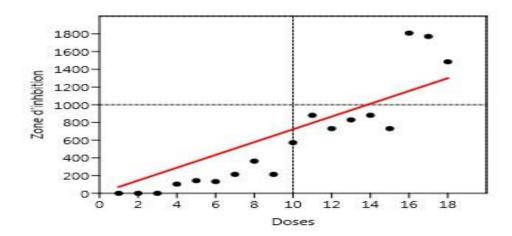
### 1.4. Corrélation entre les zones d'inhibition et les doses de l'huile essentielle

Le tableau 08 nous indique la nature de la corrélation du taux d'inhibition pour le champignon (*Aspergillus Niger*) avec les doses utilisées, il montre que Le taux d'inhibition est corrélé Positivement aux doses utilisées de l'huile essentielle, (p=1,217E-07, r=0,91).

**Tableau 8:** Calcul du coefficient de corrélation de Pearson entre le taux d'inhibition et les doses utilisée.

p-value	1,217E-07
R	0,91
$\mathbb{R}^2$	0,83

La régression linéaire simple entre le taux d'inhibition et les doses dans (**la figure 26**). Montre que le taux d'inhibition est corrélé aux doses de l'huile essentielle (R<sup>2</sup>= 0,83).



**Figure 26 :** Régression linéaire simple entre Le taux d'inhibition etles doses de l'huile essentielle.

### 1. Discussion

La croissance antifongique a été estimée quotidiennement après 5 jours en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture en tenant compte de la croissance de témoin.

Les résultats obtenus par l'observation macroscopique d'A. Niger, sont similaires avec ce qui à été trouvé par (Istikorini et Sari, 2022; Habisukan et al, 2021; Al-issawi et al, 2019) qui ont montrés que l'A. Niger possède des colonies rondes et noires sur la surface supérieure, et peu de mycélium aérien. De plus, plusieurs chercheurs comme (Budiartiet Nuryanti; Saryonoet al, 2022; George et Ramteke; Nalawade et al, 2019) ont révèlent que la morphologie microscopique d'A. Niger a montré des têtes conidiennes larges, globuleuses et noires, qui sont devenues radiées et bisériées, tendant à se diviser en plusieurs colonnes. Lesconidiophores étaient à parois lisses, hyalines devenant foncés vers la vésicule. Les conidies étaient globuleuses à subglobuleuses, noires et à parois rugueuses.

Même aspect macroscopique et microscopique d'A. Apis a été trouvé par (Chahbar, 2017; Hemmerlé, 2015; Reynaldi et al, 2015; Jensen et al, 2013), ces auteurs ont relevés que, les colonies d'A. Apis sont blanches et danses. L'examen microscopique a montré des hyphes septés avec la ramification dichotomique habituellement prononcée. Les corps de fructification, aussi appelés « sporocystes ».

Pour la méthode d'antibiogramme et selon **Duraffourd et al.** (1990) la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

D'après nos résultats, nous avons remarqué que l'activité antifongique de l'huile essentielle de*l'Ammoides verticillata*, évaluée par la méthode de diffusion par puits, a permis de révéler une activité moyenne sur la souche *Aspergillus Niger* pour la dose 4et 8 μL d'HE avec une surface d'inhibition de 126,52/263,43mm respectivement, et une sensibilité importante de germe avec un diamètre d'inhibition de 1688,4 mm a la dose de 20μL et un taux de 9,48%.

Les résultats obtenus ont montré que les taux d'inhibition de la croissance de champignon *Aspergillus Niger* augmentent avec l'augmentation des concentrations de l'huile essentielle. Selon (**Senouci**, **H et** *al*, **2020**) l'huile essentielle d'*A*. *Verticillata* a été

caractérisée principalement par le carvacrol (44,3%), le limonène (19,3%) et le p-cymène (19,2%). Le résultat de l'activité antifongique in vitro de l'huile essentielle a montré une inhibition antifongique intéressante contre les souches Alternaria alternata et Fusarium solani avec un pourcentage d'inhibition de 89%. De plus, l'huile *d'A. Verticillata* a démontré une activité antifongique in vivo prometteuse pour contrôler les infections des olives causées par *Aspergillus Niger* et *Penicillium crustosum*.

La plupart des propriétés antifongiques des huiles essentielles sont dues à la présence de terpénoïdes, en particulier de terpènes phénoliques, de phénylpropanoïdes et d'alcools. Une corrélation entre l'efficacité des antifongiques obtenus dans les huiles essentielles et leur composition chimique suggère que cette activité peut être attribuée à la présence de forte concentration relativement élevée de composés bioactives.

Plusieurs rapports ont montré que le carvacrol, limonène, p-cymène, ar-turmèrone, trisulfure de diallyle et le disulfure de diallyle présents dans de nombreuses HEs exerces des effets antifongiques (Kordali et al, 2008)

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*a montré une activité antifongique contre l'*Aspergillus Niger*, donc nous avons répondu à la problématique de notre mémoire, et nous pouvons proposer l'huile d'*Ammoides verticillata*comme une moyenne de lutte alternative contre l'*Aspergillus Niger*.

### **Conclusion**

Cette étude est une contribution à la connaissance de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Ammoides Verticillata* contre l'*Aspergillus Niger*.

Nous avons marqué une corrélation positive entre les doses de l'huile essentielle et le taux de la zone d'inhibition, nous avons remarqué l'augmentation des zones d'inhibition avec l'augmentation des doses.

La surface d'inhibition pour la dose (04µl) est de 126,52 mm, pour la deuxième dose (08µL) nous avons marqué une surface d'inhibition plus grande (263,43mm). Pour la dose 12µL nous avons marqué une zone d'inhibition de 727,83 mm, et pour la dose 16µL nous avons remarqué une surface de 813,46mm, et nous avons observé la surface d'inhibition la plus grande (1688,4 mm) avec la dose 20µl.

Les résultats obtenus ont montrés que l'huile essentielle d'*Ammoides Verticillata* à exercé une activité inhibitrice contre ce champignon pathogène responsable de La maladie du couvain pétrifié chez les abeilles.

En fin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle étudiée peut constituer des véritables alternatives aux produits fongicides conventionnels surtout contre *Aspergillus Niger*. Nos résultats permettent de proposer ce huile comme alternative aux fongicide pour, et de proposer ce huile comme une moyenne de lutte alternatives contre les champignons qui mérite d'être reprise et développée pour mieux préserver et protéger les abeilles domestique

### Références bibliographiques

**Abbes, A. (2014).** Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles d'Ammoides verticillata «noukha» de la Région de Tlemcen. *Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Département d'Agronomie et des Forêts, Université Abou Bekr Belkaid, Algérie.* 

**Abdelouahid, D. E., & Bekhechi, C. (2004).**Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata. *Nûnkha*), *Biol et Santé*, 4(2), 1-10.

Accensi, F., Abarca, M. L., & Cabanes, F. J. (2004). Occurrence of Aspergillus species in mixed feeds and component raw materials and their ability to produce ochratoxin A. *Food Microbiology*, 21(5), 623-627.

Adam, G. (2012). Pathologie apicole. Ecole d'apiculture des ruchers du sud-Luxembourg, 24p.

**Adjimi, S.ZOBIRI N et ACHOURI A. (2011)**. Le secret de l'apiculteur et des produites de la ruche. Anahla et aya elmodjiza,. Edition n° 1 Elaourassia. p 10-58.

AFNOR, E. (1986). Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises, 64, 65.

**Alborch, L., Bragulat, M. R., Abarca, M. L., & Cabañes, F. J.** (2011). Effect of water activity, temperature and incubation time on growth and ochratoxin A production by Aspergillus niger and Aspergillus carbonarius on maize kernels. *International Journal of Food Microbiology*, 147(1), 53-57.

Al-Issawi, H. A., Alwan, S. L., & AL-Abedy, A. N. (2019). Molecular diagnosis of different isolates of Aspergillus niger isolated from grapes. *Molecular diagnosis*, 4(3).

Allizée A. (2014). Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et en jeux pour la filière. Thèse de docteur en vétérinaire de l'université Paul-Sabatier de Toulouse, 149p.

Andi. (2013). Agence National De Développement Et Investissement

Aniref.(2011) Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière D. Gumy, C. Morais, P. Bowen, C. Pulgarin, S. Giraldo, R. Hajdu, J. Kiwi, Catalytic.

**Ashraf, M., & Orooj, A.** (2006). Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (Trachyspermum ammi [L.] Sprague). *Journal of Arid Environments*, 64(2), 209-220.

Avesina, A. (1985). Law in Medicine, vol. 2

Ayache, S., Quénot, G., & Gensel, J. (2007, April). Classifier fusion for SVM-based multimedia semantic indexing. In *European Conference on Information Retrieval* (pp. 494-504). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Aymé**, **A.** (2014). Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière (Doctoral dissertation).

Bachelot, C., Blaise, A., Corbel, T., & Le Guernic, A. (2006). Les huiles essentielles, Extraction et Comparaison. *Licen*, 2, 19.

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

**Baldensperger, G. (1922).** Il a rendu témoignage devant Ponce Pilate. *Revue d'Histoire et de Philosophie religieuses*, 2(1), 1-25.

**Baldensperger, G.** (1922). Il a rendu témoignage devant Ponce Pilate. *Revue d'Histoire et de Philosophie religieuses*, 2(1), 1-25.

**Barbancon J.M. (2003).** Soigner et protéger les abeilles. Le Traité Rustica de l'apiculture. Ed Rustica, Paris : 86-118

Bardeau, F. (2009). Les huiles essentielles. Fernand Lanore.

Benazir, J. F., Suganthi, R., Anjana, H., Kumar, V. R., Aswathi, M. P., Niraimathi, G., ... & Santhi, R. (2011). Bio utilization of agroindustrial waste in solid state fermentation by Aspergillus niger for the production of protease. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 2(4), 422-435

**Benoît B. et al**, Référentiel des trachéophytes de France métropolitaine version 3.02, 26 janvier 2016

Bensmail, S. (2012). Optimisation de la production de la protéase acide par aspergillus niger sur milieu solide: purification et caractérisation (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara).

Bernard, P., Prost, C., Lecerf, V., Intrator, L., Combemale, P., Bedane, C., ...& Dubertret, L. (1990). Studies of cicatricial pemphigoid autoantibodies using direct immunoelectron microscopy and immunoblot analysis. *Journal of investigative dermatology*, 94(5), 630-635.

**Bertrand**, **F.** (2003). Les maladies de l'abeille domestique (Apis mellifica) et leurs consequences sanitaires en France. *Teză de Doctorat*, *Ecole Nationale Veterinaire de Lyon*.

**Besombes** C,(2004).Contribution à l'etude de phénoménes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généraliséés. THéseDoctorat.Université de Rochelle p:41-45

**Biri, M.** (2002). Le grand livre des abeilles. Cour d'apiculture moderne. Ed vecchi S, 10, 184-196.

Biri, M. (2010). Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture. De Vecchi.

Bleichrodt, R., Vinck, A., Krijgsheld, P., Van- Leeuwen, M.R., & Wösten, H. A. B.(2013). Studies in mycology 74, cytosolic streaming in vegetative mycelium and aerial structures of Aspergillus niger.

**Blumenthal, C. Z.** (2004). Production of toxic metabolites in Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, and Trichoderma reesei: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 214-228.

**BNEDER** (2009). Plan national de développement forestier (PNDF). Rapport de D SAT direction service agricole Tissemsilt

**Bordier**, C. (2017, May). Le stress chez l'abeille domestique (Apis mellifera): analyse des modifications physiologiques et comportementales. Avignon.

Bouazza, M., Benabadji, N., Loisel, R., & Metge, G. (2004). Evolution de la végétation steppique dans le sud-ouest de l'Oranie (Algérie). *Ecologia mediterranea*, 30(2), 219-231.

**Bousbia**, N. (2004). Extraction et Identification de Quelques Huiles Essentielles (Nigelle. Coriandre, Origan, Tym, Romarin): Etude de leurs activités antimicrobiennes. *Th. magister, INA, Alger*.

**Brabançon JM.** (2006). soigner et proteger les abeilles. In traité rustica de l'apiculture. Editions rustica, Paris. pp. ou :86-109

**Bradbear**, N. (2010). Le rôle des abeilles dans le développement rural. FAO, Rome.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. *Lavoisier, Paris, 1120*.

Caplice, E., & Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology*, 50(1-2), 131-149.

Chabasse, D., Guiguen, C., & Contet-Audonneau, N. (2002). Mycologie médicale.

Chacou, M., & Bassou, K. (2007). Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte Mentha SpicataLisdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: E. coli, Pseudomonasaeroginosa, Staphylococcus aureus, Bacillus subtiluis et Candida albicans. *Mémoire de DES microbiologie. Université de Kasdi Merbah Ouargla*, 1427.

**Chahbar, M.** (2017). Principales maladies et ennemis de l'abeille domestique Apis mellifera L., 1758 en Algérie (Doctoral dissertation).

Chauzat, M. P., Carpentier, P., Madec, F., Bougeard, S., Cougoule, N., Drajnudel, P., ...& Faucon, J. P. (2010). The role of infectious agents and parasites in the health of honey bee colonies in France. *Journal of apicultural research*, 49(1), 31-39.

**Córdova, J. H.** (1999). *On karyomorphs, cladistics and taxonomic status of the Bufo spinulosus species group (Amphibia: Anura) in Peru.* Staatliches Museum für Naturkunde.

Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 26-30.

Cox, D. R., & Reid, N. (2000). The theory of the design of experiments. Chapman and Hall/CRC.D SAT direction service agricole Tissemsilt.

Daira, N. E. H., Maazi, M. C., & Chefrour, A. (2016). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (Ammoides verticillata Desf. Briq.) de l'Est Algérien. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85(1), 276-290.

Das, P., Gahlot, G. P., Singh, A., Baloda, V., Rawat, R., Verma, A. K., ...& Makharia, G. K. (2019). Quantitative histology-based classification system for assessment of the intestinal mucosal histological changes in patients with celiac disease. *Intestinal research*, 17(3), 387.

**Davet, P., & Rouxel, F. (1997).** Détection et isolement des champignons du sol. *Détection et isolement des champignons du sol*, 1-208.

De Billerbeck, V. G., Roques, C., Vanière, P., & Marquier, P. (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes* (*Lyon*), 10(3), 248-251. de recherche apicole, station fédérales de recherche laitières 39p.

Degryse, A. C., Delpla, I., & Voinier, M. A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire.

**Diemer, P.** (1988). What Does Prudentia Advise? On the Subject of the Cluny Choir Capitals. *Gesta*, 27(1/2), 149-173.

**Dijksterhuis, J., Wösten, H. (2013)** Development of Aspergillus niger. Studies in mycology ,CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, an institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences..

**Djenane**, **D.**, **Meddahi**, **A.**, & **Roncalés**, **P.** (2006). Les systèmes antioxydants et antimicrobiens pour la conservation de la viande. *Sci. Alim*, 26, 37-73.

**Djenane, D., Sanchez-Escalante, A., Beltrán, J. A., & Roncales, P.** (2002). Ability of α-tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 76(4), 407-415.

**Solano, C.** (2000).Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by Capsicum annum extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 57(1-2), 125-128.

Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lapraz J. C. (1990). Cahiers de phytothérapie clinique.

Englebin M. (2011). Essences et huiles essentielles: précaution d'emplois et conseilsenvirons.

Esteban A., Abarca M.L., Bragulat M.R., Cabanes F.J. (2006). Effect of water y ochratoxin a production by Aspergillus niger aggregate species. Int. J. Food. Microbiol., 108 (2)et en jeux pour la filière. Thèse de docteur en vétérinaire de l'université

**Fanny, B.** (2008). Effet Larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse pour obtenir le grade de Docteur vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.78p.

**Fayet, G., Rotureau, P., & Adamo, C. (2013).** On the development of QSPR models for regulatory frameworks: The heat of decomposition of nitroaromatics as a test case. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, 26(6), 1100-1105.

**Felidj, M., Bouazza, M., & Ferouani, T. (2010**). Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale Ammoides pussila (verticillata) dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Geo-Eco-Trop*, *34*, 147-154.

**Fisher, K., & Phillips, C. (2008).** Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. *Trends in food science & technology*, 19(3), 156-164.

**Fluri P. (2003).** Directive de lutte contre les maladies des abeilles. Centre 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd.

**Franchomme, P., & Penoel, D. (1990).** Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. *Limoge*, 446p

Gallai, N., & Vaissière, B. (2009). Guidelines for the economic valuation of pollination services at a national scale.

Goudarzi, H., & Pedram, M. (2011, July). Multi-dimensional SLA-based resource allocation for multi-tier cloud computing systems. In 2011 IEEE 4th International Conference on Cloud Computing (pp. 324-331). IEEE.

Guan, H., Yang, L., Guo, J., Ma, X., Wang, H., & You, S. (2007). Morphological and Molecular Identification of Aspergillus versicolor D— 1 with Selective Reduction Ability. 亚洲传统医药, 2(1), 39-44.

Habisukan, U. H., Elfita, E., Widjajanti, H., Setiawan, A., & Kurniawati, A. R. (2021). Diversity of endophytic fungi in Syzygium aqueum. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(3).

**Hachemi F.Z., Hamzi N. (2018)** .Analyses physico-chimique et activitée antimicrobienne del'huile essentielle de la plante *Ammoide verticillata* (nounkha) de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude .Université de Tlemcen.p:44.

Hamid, O., Schmidt, H., Nissan, A., Ridolfi, L., Aamdal, S., Hansson, J., ... & Berman, D. (2011). A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *Journal of translational medicine*, 9(1), 1-16.

Hardy, C. (2012). Apis mellifera, histoire d'une espèce. abeilles et Cie, (146), 13-14.

**Harris D.J.** (1989).laboratory studies on court ships and meeting in the mediterranean fruit fly, Ceratitis capitata (Wied), thesis.Universite Manchester.230p.

Hart, T., Shears, P. (1999). Atlas de poche de microbiologiel. 1" édition. Paris. Page: 227.

**Heinemann, K., Ruebig, A., Potthoff, P., Schneider, H. P., Strelow, F., Heinemann, L. A., & Thai, D. M.** (2004). The Menopause Rating Scale (MRS) scale: a methodological review. *Health and Quality of life Outcomes*, 2(1), 1-8.

**Hoyet, C.** (2005). *Le miel: de la source à la thérapeutique* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

**Hummel R, F. M.** ( **2018**).*La reine des abeilles*. Syndicat des apiculteurs deThann et environs.

**Ibrahim, M. A., Kainulainen, P., Aflatuni, A., Tiilikkala, K., & Holopainen, J. K.** (2001). Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests.

**Istikorini, Y., & Sari, O. Y.** (2022).Identification of Endophytic Fungi of Balangeran (Shorea balangeran Korth.) by Morphological Characterization. *Jurnal Sylva Lestari*, 10(2), 211-222.-

Jazet, D. P., Tatsadjieu, N. L., Tchinda, S. E., Kuate, J., Amvam, Z. P., & Menut, C. (2008). Antiradical potential and antifungal activities of essential oils of the leaves of Citrus latifolia against Phaeoramularia angolensis. *African Journal of Biotechnology*, 7(22).

Jensen, A. B., Aronstein, K., Flores, J. M., Vojvodic, S., Palacio, M. A., & Spivak, M. (2013). Standard methods for fungal brood disease research. *Journal of apicultural research*, 52(1), 1-20.

**Kalpana**, **P.**, & **Srinivasan**, **K.** (2001). A study of the digestive stimulant action of select spices in experimental rats. *Journal of food science and technology*, 38(4), 358-361.

**Keane, S., & Ryan, M. F.** (1999). Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, Galleria mellonella (L.). *Insect biochemistry and molecular biology*, 29(12), 1097-1104.

**Kiran, A.** (2016). Fungal protease production by Aspergillus niger and Aspergillus flavus using rice bran as the substrate. *Academia journal of Agricultural Research*, 4(6), 333-338.

Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C., Nenonene, Y. A., Millet, J., & Chaumont, J. P. (2004). Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois Cymbopogon sp. africains vis-àvis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Ann Méd Vét*, 148, 202-6.

Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18), 8788-8795.

Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18), 8788-8795.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

**Kuba, M., Shinjo, S., & Yasuda, M. (2004).** Antihypertensive and hypocholesterolemic effects of tofuyo in spontaneously hypertensive rats. *Journal of health science*, *50*(6), 670-673.

Lamamra M. (2010) .Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula(L.)* Pari, et de *FilipendulahexapetalaGibb*. Mémoire de Magister. Département de Biologie. Faculté des Sciences. UFA de Sétif.

Le Conte, Y., & Faucon, J. P. (2002). Les maladies de l'abeille domestique. Le Courrier de la Nature, (196), 28-32.

Lemar, K. M., Aon, M. A., Cortassa, S., O'Rourke, B., Müller, C. T., & Lloyd, D. (2007). Diallyl disulphide depletes glutathione in Candida albicans: oxidative stress-mediated cell death studied by two-photon microscopy. *Yeast*, 24(8), 695-706.

**Leyral, G., & Vierling, E.** (2007). *Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires*. Wolters Kluwer France.

**Lis-Balchin, M., & Deans, S. G. (1997).** Bioactivity of selected plant essential oils against Listeria monocytogenes. *Journal of applied microbiology*, 82(6), 759-762.

Martin, S. J., Ball, B. V., & Carreck, N. L. (2013). The role of deformed wing virus in the initial collapse of varroa infested honey bee colonies in the UK. *Journal of Apicultural Research*, 52(5), 251-258.

Masayuki, M., & Katsuya, G. (2010). Aspergillus: molecular biology and genomics. Edition Caister Academic Press, Norfolk (England).

**Merad, A. (1973). R. MEYNET,"** L'écriture arabe en question. Les projets de l'Académie de langue de Caire de 1938 à 1968"(Book Review). *Arabica*, *20*, 109.

Mhetras, N.C., Bastawde, K. B., &Gokhale, D. V. (2009). Purification and characterization of acidic lipase from Aspergillus niger NCIM 1207. Bioresource Technology., (100), 1486-1490

Mohammedi, I., Mausservey, C., Hot, A., Najioullah, F., Kanitakis, J., & Robert, D. (2006). Association d'une encéphalite à herpès virus 6 et d'un syndrome d'hypersensibilité

médicamenteuse au triméthoprime-sulfaméthoxazole. *La Revue de médecine interne*, 27(6), 499-501.

Moussa Kéïta, S., Vincent, C., Schmidt, J. P., & Thor Arnason, J. (2001). Insecticidal effects of Thuja occidentalis (Cupressaceae) essential oil on Callosobruchus maculatus [Coleoptera: Bruchidae]. *Canadian Journal of Plant Science*, 81(1), 173-177.

Muñoz, K., Vega, M., Rios, G., Geisen, R., & Degen, G. H. (2011). Mycotoxin production by different ochratoxigenic Aspergillus and Penicillium species on coffee-and wheat-based media. *Mycotoxin research*, 27(4), 239-247.

Nalawade, J., Shinde, A., Chavan, A., Patil, S., Suryavanshi, M., Modak, M., ...& Mhaske, P. C. (2019). Synthesis of new thiazolyl-pyrazolyl-1, 2, 3-triazole derivatives as potential antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 649-659.

Narayana, M., Sathyanarayan, S. G., & Sastry, G. S. (1976). Covalency effects on the ESR spectra of VO2+ in hexaaquo magnesium dihydrogen ethylenediaminetetraacetic acid. *Molecular Physics*, 31(1), 203-207.

**Ngamo, L. S. T., & Hance, T. H.** (2007). Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, 25(4), 215-220.

Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against Aspergillus flavus in liquid medium and tomato paste. *Food control*, 18(12), 1518-1523.

Ouraïni, D., Agoumi, A., Ismaïli-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrah, Y., Amrani, M., & Belabbas, M. A. (2005). Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 3(4), 147-157.

Oussou, K. R., Kanko, C., Guessend, N., Yolou, S., Dosso, M., N'Guessan, Y. T., ... & Koukoua, G. (2004). Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10-11), 1081-1086.

Pane, B., Sourabie, O., Philippe, A., Nikiem, A., Alfred, S. & Traor, E. (2011). Caractérisation de souches d'Aspergillus sp isolées des grains d'arachides cultivées au

### Références bibliographiques

Burkina Faso, Afrique de l'Ouest. International Journal of Biological and Chimical Science., 5(3), 1232-1249.

**Pasqualotto A. C.** ( **2010**). *Aspergillosis*: from diagnosis to prevention. Ed Springer Science & Business Media, New York P: 1027.

**Pasqualotto A. C.** ( **2010**). *Aspergillosis*: from diagnosis to prevention. Ed Springer Science & Business Media, New York P: 1027

Pasqualotto, A. C., Xavier, M. O., Sánchez, L. B., de Oliveira Costa, C. D., Schio, S. M., Camargo, S. M., ... & Severo, L. C. (2010). Diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients by detection of galactomannan in the bronchoalveolar lavage fluid. *Transplantation*, 90(3), 306-311.

**Pauli, A.** (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, 11(3), 126-133.

**Pelletier**, **N.** (2010). Le déclin des populations d'abeilles au québec: causes probables, impacts et recommandations. *St-Colomban. Sherbrooke University*.

**Piacentini**, **L.** (**1949**). Della Diagnosi Citologica Dei Tumori Metodi-Risultati. *Tumori Journal*, *35*(5-6), 211-228.

**Pibiri, M. C.** (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles (No. THESIS). EPFL.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). The ecology of fungal food spoilage. In *Fungi and food spoilage* (pp. 3-9). Springer, Boston, MA.

Prudent, D., Perineau, F., Bessiere, J. M., Michel, G. M., & Baccou, J. C. (1995). Analysis of the essential oil of wild oregano from Martinique (Coleus aromaticus Benth.)—evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. *Journal of Essential Oil Research*, 7(2), 165-173.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

**Rahul, P., &Jha, S. N.(2014).**Basics of the genus Aspergillus. International Journal of Research in Botany., .4(2), 26-30.

Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., & Rezaei, M. B. (2008). Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermum copticum L. essential oils. *International journal of food microbiology*, 122(1-2), 135-139.

Ravazzi G. (2003). Abeille et apiculture. Ed de Vecchi S.A. Paris,

**Ravazzi,G.**( **2007**). Abeille et apiculteur, Nouvelles Editions de VECCHI n°: 9849 SA-Paris. p 159.

Regnault-Roger, C., Bernard, J.R. and Phylogene, C.V. (2002). Biopesticides d'origine végétale. Tec et Doc Eds, Paris, 337 p. Regnault-Roger, C., Phi

Richard, H. (1992). Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. 339

Ruttner, F. (1976). African races of honeybees. Proc. Int. Beekeeping Congr., 25, 325-252.

Sallé, J. L., & Pelletier, J. (1991). Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche.

Saryono, S., Novianty, R., Suraya, N., Piska, F., Devi, S., Pratiwi, N. W., & Ardhi, A. (2022). Molecular identification of cellulase-producing thermophilic fungi isolated from Sungai Pinang hot spring, Riau Province, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(3).

Sasaki, A., Ashikari, M., Ueguchi-Tanaka, M., Itoh, H., Nishimura, A., Swapan, D., ...& Matsuoka, M. (2002). A mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature*, 416(6882), 701-702.

Schirner, G., Harmon, T., & Klefstad, R. (2004, October). Late demarshalling: A technique for efficient multi-language middleware for embedded systems. In *OTM Confederated International Conferences" On the Move to Meaningful Internet Systems"* (pp. 1155-1172). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Schiro J.** (2011). C'est l'université du phénomène de disparition des abeilles qu'il faut chercher à comprendre en priorité. ITSAP, 22p.

**Schuhmacher, A., Reichling, J., & Schnitzler, P. J. P. V.** (2003). Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 invitro. *Phytomedicine*, 10(6-7), 504-510.

Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C., & Van Dijck, P. W. (2002). On the safety of Aspergillus niger–a review. *Applied microbiology and biotechnology*, *59*(4), 426-435.

**Seeley, T. D.** (1982). Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behavioral ecology and sociobiology*, 11(4), 287-293.

Seltzer, P. (1946). Le climat de l'Algérie. Trav. Inst. Météorol. Phys. Globe, Alger,

Senouci, H., Benyelles, N. G., Dib, M. E., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Ammoides verticillata essential oil as biocontrol agent of selected fungi and pest of olive tree. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 11(2), 182-188.

Sevastianos R., Zaouia N., Salih G., Tantaoui Elaraki A., Lamrani K., Cheheb M., Hassouni H., Frederic V., Isabelle G.P., Christopher A., Ismaili A.M. (2006). Characterization of filamentousfungi isolated from moroccan olive and olive cake: toxinogenicpotential of Aspergillus strains. Mol. Nut. Food Res., 50 (6): 500-506.

**Sharma**, N., & **Tripathi**, A. (2006). Fungitoxicity of the essential oil of Citrus sinensis on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6), 587-593.

**Sijelmassi, A.** (1991). Les plantes médicinales marocaines (Moroccan medicinal plants). *Rabat (Maroc)*.

Topolska, G., Gajda, A., Pohorecka, K., Bober, A., Kasprzak, S., Skubida, M., & Semkiw, P. (2010). Winter colony losses in Poland. *Journal of Apicultural Research*, 49(1), 126-128.

**Toullec, A.** (2008). L'abeille noire, Apis mellifera mellifera, historique et sauvegarde (Doctoral dissertation)

Valnet, J. (1984). Aromathérapie: traitement de maladie par les plantes. *Maloine SA Editeur Paris* 

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. *Food control*, 19(12), 1130-1138.

### Références bibliographiques

**von Buttel-Reepen, H. (1906).** Contributions to the systematics, biology as well as the historical and geographical distribution of honeybees (Apis mellifica L.) their variability and other Apis species. *Mitt. Zool. Museum Berlin*, *3*, 117-201

Ward O. P., Qin W. M., Dhanjoon J., Ye J., Sing A. (2006). *Physiology and Biotechnology of Aspergillus*. Advances in Applied Microbiology 58: 1-75.

Wehmer, C. (1931). Doppelnamen in der Pflanzenchemie. Zeitschrift für Angewandte Chemie, 44(35), 719-720.

**Wilson, E. O. (1971).** The Insect Societies (Cambridge, MA: Belknap) Hölldobler B and Wilson EO 1990. In *The Ants*.

Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

Zambou, M. (2009). Le guide de l'apiculteur. P8-60.

### ملخص

هذه الدراسة هي مساهمة في معرفة فعالية الزيت الأساسي Ammoides Verticillatad (النوخة) ضد الفطري المسبب لأمراض نحل الخلية (04) Aspergillus Niger في منطقة تيسمسيات. تظهر نتائجنا أنهكاماز ادتالجر عاتنلاحظتز ايد فيمستوى فقطر منطقة التثبيط بعرعة (12 ميكرولتر) قطر ميكرولتر) هو 126,52 مم، و بالنسبة لجرعة (18 ميكرولتر) لاحظنا قطر أكبر لمنطقة التثبيط (263.4 مم، و النسبة لجرعة (16 ميكرولتر) حددنا قطر 813.46 مم، و لاحظنا أكبر قطر لمنطقة التثبيط، و بالنسبة لجرعة (16 ميكرولتر) حددنا قطر 813.46 مم، و لاحظنا أكبر قطر لمنطقة التثبيط (1688.4 مم، و النسبة للأمراض ميكرولتر انطلاقا من نتائجنا لاحظنا أن الزيت الأساسي ل Ammoides Verticillata (النوخة) له نشاط مثبط ضد الفطري المسبب لأمراض نحل الخلية المكافحة المنتجات الكيميائية ضد الفطريات المسببة للأمراض.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطريات ، زيوت أساسية (Ammoides verticillata) ، فطر (Aspergillus Niger) ، نحل.

### **Abstract**

Our study was devoted to the evaluation of the antifungal activity of essential oil of an aromatic plant Ammoides verticillata. Growing spontaneously in the region of Tlemcen. The activity was evaluated on Aspergillus Niger which attacks bee larvae in the region of Tissemsilt. The extraction of essential oil of Ammoides verticillataa was done using a Clevenger type "hydrodistillation". The yield in EO is 2.6%. The antifungal activity is highlighted by the method of diffusion in wells, the results obtained show a strong activity of essential oil of this plant against the strain of Aspergillus tested varies between 1% and 10% depending on the concentration applied. The results revealed that the essential oil studied has an excellent antifungal activity against Aspergillus which is due to its richness in chemical compounds. So the EO tested during this study, constitutes a good alternative against the fungus of (Aspergillus Niger) which attacks the larvae of the bees but needing other studies especially that of the irritative and toxic effect.

Key words: antifungal activity, essential oils (Ammoides verticillata), fungus of (Aspergillus Niger), bees

### Résumé

Notre étude s'est consacrée sur l'évaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle d'une plante aromatique *Ammoides verticillata*. Poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen. L'activité a été évalué sur l'*Aspergillus Niger* qui attaque les larves des abeilles dans la région de Tissemsilt. L'extraction d'huile essentielle *d'Ammoides verticillataa* été faite à l'aide d'un montage de type Clevenger « hydrodistillation ».Le rendement en HE est de 2,6%. L'activité antifongique est mise en évidence par la méthode de diffusion en puits, Les résultats obtenus montrent une forte activité d'huile essentielle de cette plante vis à vis la souche d'Aspergillus testée varie entre 1% et 10% selon la concentration appliqué. Nous résultats ont révélé que l'huile essentielle étudiée présente une excellente activité antifongique vis-à-vis l'Aspergillus qui est dû à sa richesse de ces essences en composés chimiques. Donc l'HE testée au cours de cette étude, constitue une bonne alternatives contre le champignon de (*Aspergillus Niger*) qui attaque les larves des abeilles mais nécessitant d'autres études surtout celle de l'effet irritatif et toxique.

**Mots clés:** l'activité antifongique, huiles essentielles (Ammoides verticillata), champignon de (*Aspergillus Niger*), les abeilles