



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 agronomiques**

Spécialité : **Production animale**

Présenté par : **M^{elle} LAREK Khadidja**

M^{elle} HAFED Cherifa

Thème

**Utilisation de propolis pour lutter contre (l'ascosphérose
Ascosphera Apis) qui infecte l'abeille domestique (*Apis mellifera
intermissa*)**

Soutenu le, juin 2022

Devant le Jury

Mr. BOUNOUIRA Yassine	Président	M.C.B	Univ-Tissemsilt
Mr. CHAHBAR Mohamed	Encadreur	M.C.A	Univ-Tissemsilt
M ^{elle} HENNI Asma	Co-encadreur	Doctorante	Univ-Tissemsilt
M ^{me} HARICHE zahira	Examinatrice	Docteur	Univ-Tissemsilt



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 agronomiques**

Spécialité : **Production animale**

Présenté par : *M^{elle}* **LAREK Khadidja**

M^{elle} **HAFED Cherifa**

Thème

**Utilisation de propolis pour lutter contre (l'ascosphérose
Ascosphaera Apis) qui infecte l'abeille domestique (*Apis mellifera
intermissa*)**

Soutenu le, juin 2022

Devant le Jury

Mr BOUNOUIRA Yassine	Président	M.C.B	Univ-Tissemsilt
Mr. CHAHBAR Mohamed	Encadreur	M.C.A	Univ-Tissemsilt
<i>M^{elle}</i> HENNI Asma	Co-encadreur	Doctorante	Univ-Tissemsilt
<i>M^{me}</i> HARICHE Zahira	Examinatrice	Docteur	Univ-Tissemsilt

Année universitaire : 2021-2022.

قَالَ تَعَالَى: ﴿وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ
بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ ﴿٦٨﴾ ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ
فَأَسْلِكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بَطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ
أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿٦٩﴾﴾

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de nous avoir donnés la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de Master. Nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadreur M. Chahbar Mohamed, Maitre de conférences à l'université de Tissemsilt, ainsi à notre Co-encadreur Henni Asma pour leurs soutiens depuis le début de ce travail et leurs supervisions de tous leurs détails qui nous ont fait confiance. A nouveau en s'engageant à nos côtés dans ce travail, nous faisons profiter de leurs savoirs, et nous offrons leurs présences tout au long de ces longs mois d'efforts.

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

Un grand merci a :

Dr BOUNOUIRA Yassine, maitre de conférences B, pour m'avoir honoré en acceptant de présider le jury de soutenance de notre mémoire de fin d'études.

Mme HARICHE Zahira, Docteur, pour avoir accepté de juger notre travail.

Nos remerciements s'étendent également à M Mohamed Afer, responsable du laboratoire, pour son aide et toute la patience dont il a fait preuve à notre égard.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tous les enseignants et le personnel de notre université, côtoyés au court de ces cinq années.

Merci à tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, rien de tout cela n'aurait été possible sans vous.



Dédicaces

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie cet humble travail à celui qui m'a encouragé tout au long de ma vie, à l'homme le plus éminent de ma vie, mon cher père.

Et à qui je m'élève, et à qui je repose, au cœur qui donne, ma mère bien-aimée.

A celle qui s'est efforcée de me soutenir et a été pour moi le soutien et le refuge de ma sœur unique et de son mari et de ses fils Rayan et Ishek.

Pour celui qui incarnait l'amour dans toutes ses significations, il était le lien et le don, et il m'a beaucoup donné sous forme de patience, d'espoir et d'amour pour mon fiancé, merci.

A toute ma famille et à ceux qui m'ont soutenu dans ma vie, en particulier mon oncle et ses fils, car ce sont des frères et un soutien toujours.

A mes amies proches Zahia Ouahiba et Hanane, et mes camarades.

Et à tous ceux qui m'ont aidé dans ma vie scolaire.

Khadija





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts à :

Mon père que dieu lui fasse miséricorde, qui m'a honoré de porter son nom et qui a fourni le plus cher de son âme afin d'arriver à un degré scientifique plus haut mais, malheureusement, il nous quitte avant de voir le fruit de sa plantation.

Ma mère puis ma mère, la lumière de mes yeux et l'origine de ma joie, celle qui m'a convaincue à travers ses mots et ses invocations à être plus forte, elle est un vrai compagnon de succès et d'espoir durant toutes les épreuves de ma vie.

Mon frère, le bras, le soutien et l'humérus qui m'a offert la confiance en soi même " mon frère Ahmed ".

Mes sœurs et mon frère (Houria, Hayat, Marwa, Farida et Abde aziz) et aussi les filles de ma chère sœur (Kawther et Bochra).

Mon professeur " Henni Asma" qui m'a toujours soutenue durant la préparation de mon mémoire sans allier tous les autres professeurs et toutes personnes qui m'ont enseigné une lettre.

Toute la famille "Hafed", mes amies, toute la promotion de production animale 2021/2022.

Je vous annonce cette dédicace avec amour, noblesse et dignité.

Cherifa



Table des matières

Remerciements.....	I
<i>Dédicaces</i>	II
Liste de figures.....	VIII
Liste des tableaux	IX
Liste des abréviations	X
Introduction	1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 01: L'hôte *Apis mellifera*

1.1. Origine et répartition géographique de l'abeille <i>d'Apis mellifera</i>	3
1.1.1. Origine de l'abeille domestique	3
1.1.2. Répartition géographique en Algérie	3
1.1.2.1. La race <i>Apis mellifera</i> intermissa.....	3
1.1.2.2. La race <i>Apis mellifera</i> sahariensis	4
1.2. Systématique de l'abeille domestique	4
1.3. Communauté des abeilles domestiques	5
1.3.1. Les castes	5
1.3.1.1. La reine	5
1.3.1.2. Les ouvrières	5
1.3.1.3. Le faux bourdon "le mâle"	6
1.3.2. Couvain	6
1.3.2.1. Couvain ouvert	7
1.3.2.2. Couvain operculé.....	7
1.4. Morphologie de l'abeille domestique	7
1.4.1. Tête.....	7
1.4.2. Thorax	8
1.4.3. Abdomen.....	8
1.5. Cycle biologique d' <i>Apis mellifera</i>	9
1.5.1. Œuf	9
1.5.2. Larve	9
1.5.3. Nymphe –adulte.....	9

1.6.	Nutrition et durée de vie	10
1.6.1.	Nutrition	10
1.6.2.	Durée de vie	10
1.7.	Les rôles de l'abeille domestique.....	11
1.8.	Les facteurs influencent les pertes de colonies.....	11
1.8.1.	Facteurs environnementaux	11
1.8.2.	Facteurs au tropique	12
1.8.3.	Maladies de l'abeille domestique	12
1.9.	Ennemis de l'abeille domestique.....	15
1.10.	Défense de la colonie d'abeilles face aux agents pathogènes.....	15
1.10.1.	Une défense sociale.....	15
1.10.2.	Une protection individuelle	16

Chapitre 02: l'Ascosphérose

2.1.	Généralités sur l'Ascosphérose	17
2.1.1.	Historique et répartition géographique de l'Ascosphérose	17
2.1.2.	Position systématique de l'agent causal	17
2.2.	Bioécologie de l'ascosphérose <i>Ascosphaera apis</i>	18
2.2.1.	Distribution spatiale de l'ascosphérose	18
2.2.2.	Étapes de formation des spores d' <i>Ascosphaera apis</i>	18
2.2.3.	Étude de différentes formes de champignon <i>Ascosphaera apis</i>	19
2.2.4.	Croissance mycélienne de champignon <i>Ascosphaera apis</i>	20
2.3.	Les facteurs de stress déclenchant la maladie	21
2.4.	Pathogénèse.....	22
2.5.	Mode de propagation	23
2.6.	Caractères macroscopiques et microscopiques d' <i>Ascosphaera apis</i>	23
2.6.1.	Aspect macroscopique d' <i>Ascosphaera apis</i>	23
2.6.2.	Aspect microscopique d' <i>Ascosphaera apis</i>	24
2.7.	Dégâts de l'ascosphérose	24
2.8.	Lutte contre l'ascosphérose	25
2.8.1.	Techniques de gestion.....	25
2.8.2.	Lutte chimique.....	25
2.8.3.	Contrôle par des produits naturels	25

2.9.	Méthodes de lutte contre les agents pathogènes	26
2.9.1.	Méthodes chimiques	26
2.9.2.	Produits naturels	26
2.9.2.1.	Les acides organiques	26
2.9.2.2.	Aromathérapie (les huiles essentielles).....	27
2.9.3.	Méthode biologique (Utilisation des champignons)	27
2.9.4.	Lutte biotechnique	27
2.9.4.1.	Blocage de ponte de la reine	27
2.9.4.2.	Piégeage des parasites dans du couvain de mâles	28
2.9.4.3.	Plateaux grillagés.....	28
2.9.4.4.	Les autres luttés contre les agents pathogènes.....	28

Chapitre 03: Généralité sur la propolis

3.1.	Histoire de la propolis	29
3.2.	Définition de la propolis	29
3.3.	Origine de la propolis	30
3.4.	Origine botanique de la propolis algérienne.....	30
3.5.	Collecte de la résine par les abeilles	30
3.5.1.	L'âge de l'abeille.....	31
3.5.3.	La saison :	32
3.5.4.	Le climat.....	32
3.6.	Récolte de la propolis par l'homme.....	32
3.6.1.	Grille à propolis du commerce	32
3.6.2.	« CPI » ou Collecteur de propolis intelligent.....	33
3.7.	Propriétés physico-chimique de la propolis	34
3.7.1.	Propriétés physique	34
3.7.1.1.	Caractéristiques organoleptiques	34
3.7.1.2.	Consistance	34
3.7.2.	Propriétés chimique.....	35
3.8.	Composition de la propolis	35
3.9.	Propriétés thérapeutiques de la propolis.....	36
3.9.1.	Activité antimicrobienne	36
3.9.1.1.	Action antibactérienne.....	36
3.9.1.2.	Action antivirale.....	36

3.9.1.3.	Action antifongique et antimycosique	37
3.9.1.4.	Action antiparasitaire.....	37
3.9.2.	Propriété antioxydant.....	37
3.9.3.	Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice.....	37
3.9.4.	Propriété anti-inflammatoire	38
3.9.5.	Propriété anesthésique	38
3.9.6.	Propriété cicatrisant et régénératrice.....	38
3.10.	Utilisation de la propolis	38
3.10.1.	Utilisation de la propolis par les abeilles	38
3.10.2.	Utilisation de la propolis par l'homme.....	39
3.10.2.1.	Utilisation traditionnelle	39
3.10.2.2.	Utilisation commerciale	39
3.10.2.3.	Autre utilisation.....	39
3.11.	Forme galénique	40
3.12.	Conservation	41
3.12.1.	Les teintures	41
3.12.2.	Les extraits	41
3.13.3.	La lyophilisation	41

Deuxième Partie : Partie pratique

Chapitre 01: Matériels et Méthodes

1.	L'objectif de cette étude	42
2.	Matériel et Méthodes.....	42
2.1.	Matériel biologique	42
2.1.1.	Champignon.....	42
2.1.2.	Propolis	42
2.1.3.	Matériels de laboratoire	46
2.2.	Méthodologie utilisée.....	47
2.2.1.	Protocole de la préparation de milieux de culture	47
2.2.2.	Protocole d'extraction de la propolis.....	47
2.2.3.	Isolement et identification de l'ascosphérose <i>Ascospheera apis</i>	48
2.2.4.	Évaluation de l'activité antifongique de la propolis.....	50
2.2.5.	Taux d'inhibition.....	52

2.2.6. Analyses statistiques	53
------------------------------------	----

Chapitre 02 : Résultats et Discussion

1. Résultats et discussion	54
1.1. L'activité antifongique	54
1.2. Les caractéristiques de provenance des échantillons de propolis.....	55
1.4. Analyse descriptive de développement de champignon	56
1.5. Relation extrait-l'efficacité d'éthanol	58
1.6. La relation entre l'efficacité et les doses	58
1.7. La relation entre l'efficacité et origine géographique de propolis	60
1.8. L'efficacité de propolis par rapport l'éthanol.....	61
1.9. Différence entre l'extrait de propolis et témoin.....	62
1.10. Taux d'inhibition.....	62
Conclusion et perspectives.....	65
Références bibliographiques	67
ملخص.....	67
Summary.....	67
Résumé.....	67

Liste de figures

Figure 1: race d'abeilles algérienne (A: <i>apis mellifera intremissa</i> et B: <i>apis mellifera sahariensis</i>).....	4
Figure 2: détermination des castes chez l'abeille.....	6
Figure 3: Morphologie d'une ouvrière.....	7
Figure 4: la tête d'une abeille avec ses proboscis étirés.....	8
Figure 5: les grandes étapes du développement commun aux trois castes d'abeille.....	10
Figure 6: des ailes écartées et déformées	14
Figure 7: Acarapis woodi observé avec microscope électronique.	14
Figure 8: Trace de diarrhée provoquée par la nosérose sur la colonie	14
Figure 9: symptômes de la loque européenne sur un cadre du couvain	15
Figure 10: Les étapes de formation des spores d' <i>Ascospaera apis</i>	19
Figure 11: aspect microscopique des kystes d' <i>Ascospaera apis</i> (Gr X400).	19
Figure 12: Aspect microscopique des balles de spores d' <i>Ascospaera apis</i> (Gr X 400)	20
Figure 13: Aspect microscopique de mycélium d' <i>Ascospaera apis</i> (Gr X 400)	20
Figure 14: les étapes de croissance mycélienne dans une température optimale (25°C à 30°C), mesurée chaque 24 heures A, B et C : la croissance mycélienne d'A. <i>Apis</i> dans une température de 25°C ; D, E et F : la croissance mycélienne d'A. <i>Apis</i> dans une température de 30°C	21
Figure 15: deux momies de couvain à l' <i>Ascosphérose</i>	24
Figure 16: Abeilles porteuses de propolis dans la colonie.	30
Figure 17: butineuses de propolis dans la ruche.....	31
Figure 18: Récolte de propolis par l'homme par grille à propolis du commerce	33
Figure 19: Récolte de la propolis par l'homme par "CPI" ou collecteur de propolis intelligent	33
Figure 20: Composition moyenne globale de la propolis	36
Figure 21: Localisation géographique des deux régions d'étude.....	43
Figure 22: les espèces végétales présentées dans la wilaya Tissemsilt	44
Figure 23: chêne (Moudir, 2004).....	45
Figure 24: Cyprès (<i>Cupressus</i> sp).....	46
Figure 25: pin (<i>pinus</i> sp)	46
Figure 26: la filtration de l'extrait de propolis.....	47
Figure 27: Aspect macroscopique d' <i>Ascospaera apis</i> ; Les colonies d' <i>Ascospaera apis</i> sont blanches	49
Figure 28 : Aspect microscopique d' <i>Ascospaera apis</i> (Gr X 400).....	50
Figure 29 : incuber les boîtes de pétri dans une étuve à 28°C.....	51
Figure 30 : pris les mesures de diamètre des disques.....	52
Figure 31 : la représentation de l'efficacité des vapeurs d'extraits de plantes dans l'inhibition de la croissance mycélienne du champignon (<i>ascosphaera apis</i>) sur le milieu. A : caractéristique de la mise en place du champignon sur le milieu, B: évaluation de la croissance fongique sur le milieu.....	52
Figure 32 : efficacité de l'extrait d'origan dans l'inhibition de la croissance mycélienne d' <i>ascosphaera apis</i> 7 jour	55
Figure 33 : taux d'inhibition de la région Tiaret et Tissemsilt.....	62

Liste des tableaux

Tableau 1: les maladies de l'abeille domestique fréquemment rencontrées.....	13
Tableau 2: propriétés organoleptiques de la propolis	34
Tableau 3: propriétés chimique de la propolis.....	35
Tableau 4: les formes galéniques de la propolis.	40
Tableau 5 : Matériels de laboratoire	46
Tableau 6: les résultats du développement du champignon d'Ascospheera apis pour les deux origines de propolis	54
Tableau 7: Présente les caractéristiques d'échantillons de propolis.....	55
Tableau 8: analyse descriptive du développement d'ascospheera apis	56
Tableau 9: le groupement des groupes homogène pour diamètres 1	57
Tableau 10: le groupement des groupes homogène pour diamètres 2	59

Liste des abréviations

A. apis : *Ascospaera apis*.

NO : nitrique oxide.

PG : prostaglandine.

PDA : potato dextrose agar.

Introduction

Introduction

L'abeille domestique (*Apis mellifera*) constitue un être vivant indispensable à l'équilibre environnemental dans le monde en tant que pollinisateur de très nombreuses espèces végétales (**Merbtj, 2015**), « Si les abeilles disparaissent, l'humanité n'aurait plus que quatre années à vivre » cette phrase prononcée par Einstein met en valeur le rôle extrêmement important de l'abeille dans l'équilibre de la flore (**Blanc, 2010**). Et leur succès d'évolution leur a permis de devenir une pérenne espèce pouvant exploiter pratiquement tous les habitats de la planète. Ce succès est dû à la chimie et à l'application des produits spécifiques que les abeilles fabriquent : miel, cire d'abeille, venin, pollen, gelée royale et propolis (**Bankova, 2005**). L'organisation sociale très élaborée de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) fait un modèle biologique très important dans différentes études. La société d'abeille est constituée de trois castes, les sexués étant responsables de la reproduction sont représentés par la reine et les faux bourdons, et les ouvrières qui accomplissent les autres fonctions de la colonie (**Hunt et Nalpa, 1994**).

Au cours des dernières décennies, et malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. Ces produits peuvent être d'origine végétale ou animale. Nous citons la propolis parmi les substances d'origine animale (**Valcic et al, 1999**). Les abeilles récoltent une résine présente sur les bourgeons, les jeunes rameaux et les blessures de certains arbres et arbustes prévue pour les protéger contre les attaques des microorganismes et des insectes. La propolis est produite par l'abeille en mélangeant cette résine à la cire et aux enzymes sécrétées par leur système glandulaire (**Cardinault et al, 2012**).

Ce produit de la ruche est très précieux en raison de sa composition en polyphénols et flavonoïdes responsables de ses propriétés biologiques et sa capacité à piéger les radicaux libres. À cet effet la propolis est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle, car elle présente de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques telle que l'activité antioxydante, antifongique, antibactérienne, antivirale et anti-inflammatoire (**Bankova et al, 2000**).

Différentes espèces de champignons peuvent infecter les abeilles et peuvent avoir des effets pathogènes. Les plus prévalents sont *Ascospaera apis*, *Aspergillus niger*, *Nosema apis* et *Nosema ceranae*. L'ascosphérose est une maladie fongique causée par un champignon,

Introduction

Ascospaera apis, filamenteux qui provoque une infection létale chronique du couvain appelée maladie du couvain plâtré. Cette maladie reste peu pathogène malgré une étude montrant de grandes différences de virulence en fonction des souches (**Vojvodic et al, 2011**).

Ce travail a pour but d'évaluer l'activité antifongique des extraits de la propolis provenant de différentes origines géographiques (Tissemsilt, Tiaret). Pour le faire, nous avons testé ces extraits sur une souche fongique d'*Ascospaera apis*. L'étude a été faite en trois volets :

- Préparation des extraits éthanolique de propolis.
- Isolement et identification de champignon *Ascospaera apis*.
- Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de propolis.

Première Partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 01: L'hôte *Apis mellifera*

1.1. Origine et répartition géographique de l'abeille d'*Apis mellifera*

L'*Apis mellifera* est une espèce qui a montré un grand potentiel d'adaptation on la trouve presque partout dans le monde donc qu'elle est son origine et ses répartitions géographique ?

1.1.1. Origine de l'abeille domestique

Le mot « abeille » vient du nom latin *Apis* qui signifie « mouche à miel », elle fait partie des insectes sociaux appartenant à l'ordre des hyménoptères (Lehébel, 2014). Ils sont apparus il y a 45 millions d'années nettement avant l'homme (Clément, 2004).

Les premières abeilles seraient apparues lors de l'Eocène, suivies par les premiers individus du genre *Apis* pendant l'Oligocène (Hinojosa *et al*, 2009 ; Kotthoff *et al*, 2011). Les plus anciens fossiles du genre *Apis*, datent de l'Oligocène-Miocène pour l'Europe et du Miocène pour l'Asie, l'Afrique de l'est et les Etats-Unis (Hinojosa *et al*, 2009).

1.1.2. Répartition géographique en Algérie

L'élevage des abeilles est répandu dans l'ensemble des zones agro écologiques et s'insère harmonieusement dans les systèmes de production arboricole les systèmes montagneux, les oasis et les plaines (Anupama *et al*, 2003) les mêmes auteurs rajoutant que le cheptel apicole algérien est constitué de deux races à savoir *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*

1.1.2.1. La race *Apis mellifera intermissa*

C'est une abeille appartenant à la race nord-africaine. Également appelée « abeille tellienne » ou encore « abeille noire du Tell » (figure 1A) dont l'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien mais elle peuple également tout le territoire algérien y compris les oasis du Sahara oriental (Chahbar, 2013). L'abeille tellienne est la race dominante en Algérie où elle se présente sous la forme de plusieurs populations adaptées aux divers biotopes (Anupama *et al*, 2003).

1.1.2.2. La race *Apis mellifera sahariensis*

Encore appelée « abeille saharienne » (figure 1B) implantée au sud-ouest de l'Algérie «Morgrar, Sfissifa Béchar, Djebel Antar, Djebel Bouarid, Djebel Grouz, Daria l'Hamar et Beni Ounif» (Chahbar, 2017).Elle est de couleur noire, productive, prolifique, résistante aux maladies et aux prédateurs mais néanmoins elle est agressive présentant une propension à l'essaimage (Anupama *et al* ,2003).



Figure 1:race d'abeilles algérienne (A: *apis mellifera intremissa* et B: *apis mellifera sahariensis*) (Abersi *et al*, 2016).

1.2. Systématique de l'abeille domestique

Le genre *Apis*, comprenant plusieurs espèces d'abeilles, appartient à l'ordre des Hyménoptères (Michez, 2007).

Règne :.....Animalia.

Embranchement :..... Arthropoda.

Sous embranchement : Antennata.

Classe :.....Insecta.

Ordre :..... Hymenoptera.

Sous ordre :.....Apocrita.

Super famille :Apoidea.

Famille :.....Apidae.

Sous famille :..... Apinae.

Genre :*Apis*.

Espèce :*Apis mellifera*

1.3. Communauté des abeilles domestiques

Les abeilles vivent dans les ruches en colonie. Formant une société très organisée. Chaque colonie est composée de trois castes, à savoir l'ouvrière, la reine et le faux bourdon.

1.3.1. Les castes

Les abeilles sont divisées en castes ayant des rôles bien précis à accomplir dans la ruche (**Darchen et al, 1958**). Ces castes sont représentées par une reine, des ouvrières et des faux bourdons (figure 2), étant différents sur le plan morphologique comme dans leurs espérances de vie (**Bakiri, 2018**).

1.3.1.1. La reine

La reine est la seule femelle fécondé et reproductrice de la ruche (figure 2), elle donnera naissance à toutes les abeilles de la colonie (**Pag et Peng, 2001**). Elle est issue d'un œuf fécondé donc diploïdes et se développent dans une cellule spéciale dite royale (**Jaen-prost et Le Conte, 2005**).

La reine est l'individu le plus grand dans la ruche, elle se distingue nettement des abeilles ouvrières et des faux bourdons, Elle possède un abdomen allongé et très développé, un thorax volumineux et une langue de petite taille. Ses glandes mandibulaires sont très développées et permettent l'élaboration des phéromones royales (**Snodgrass, 2018**). Elle mesure de 18 à 22 cm de long, son thorax atteint environ 4,2 mm de diamètre, elle pèse entre 178 et 298 mg (**Winston, 1993**).

1.3.1.2. Les ouvrières

Elles sont issues d'œufs fécondés (figure 2), étant de plus petite taille, Leurs pièces buccales sont très développées et elles possèdent des glandes hyopharyngiennes qui permettent de

nourrir le couvain (Snodgrass, 2018). Elles sont responsables de la plupart des tâches nécessaires à la survie de la colonie. Constituant la majorité de la colonie. Elles nettoient les cellules et nourrissent les larves, sécrètent la cire, rassemblent également le pollen déposé au hasard par les butineuses dans les alvéoles. Au bout d'environ trois semaines, l'abeille ouvrière est apte à devenir butineuse. Mais avant d'assumer ce rôle, elle assure parfois celui de gardienne, défendant l'entrée de la ruche contre les abeilles pilleuses venues des autres colonies ou contre les guêpes nuisibles (Ndola *et al*, 2017).

1.3.1.3. Le faux bourdon "le mâle"

Sont issus d'œufs non fécondés (figure 2). Ils sont plus grands que l'ouvrière, avec un corps plus épais et trapu. Ils ne possèdent pas de dard. Leur langue et leurs pièces buccales sont peu développées. Le rôle du mâle dans la ruche est dédié à la reproduction ils sont seulement présents dans la ruche au printemps, et la quittent en fin de saison de reproduction. Ils peuvent parfois changer de colonie (Snodgrass, 2018).

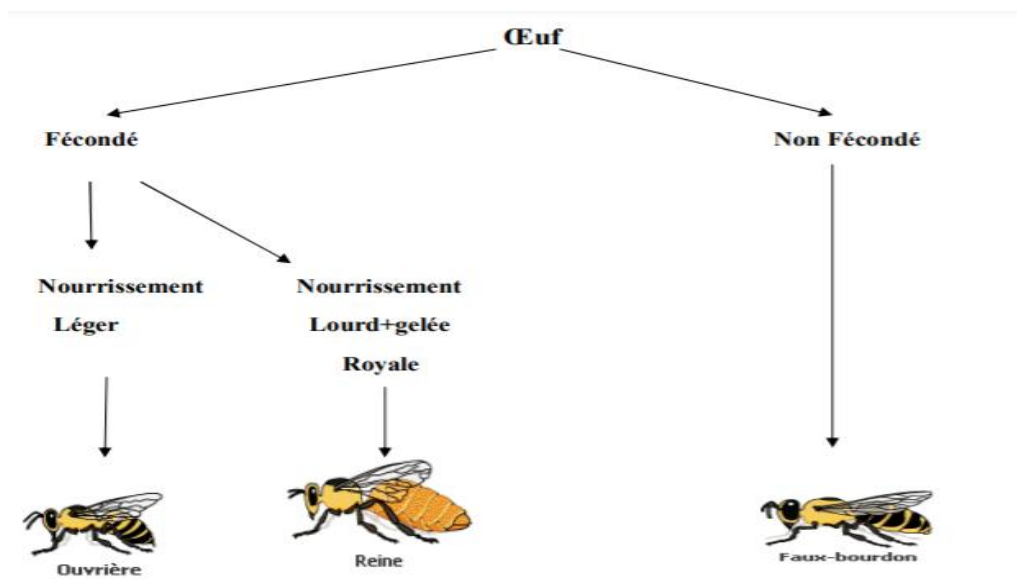


Figure 2: détermination des castes chez l'abeille (Guerriat, 1996)

1.3.2. Couvain

Désigne l'ensemble des formes immatures de l'abeille au cours de son développement (œufs, larves et nymphes), en distinguant deux formes de couvains, ouvert et operculé.

1.3.2.1. Couvain ouvert

Qui est constitué des œufs et des larves dont la durée de vie est respectivement 3 et 5 jours pour toutes les castes (Maisonasse *et al*, 2016).

1.3.2.2. Couvain operculé

Le couvain operculé correspond au stade nymphal. Les alvéoles renferment les nymphes qui sont couvertes par une mince couche de cire produites par les ouvrières cirières. La durée de ce stade diffère d'une caste à une autre. Elle est de 7 jours pour la reine, 13 jours pour l'ouvrière et 16 jours pour le mâle (Maisonasse *et al*, 2016).

1.4. Morphologie de l'abeille domestique

Du point de vue morphologique, le corps d'abeille se divise en trois parties : la tête, thorax et l'abdomen (figure 3). Il est entouré par une cuticule, une membrane externe de nature chitineuse dure formant un exosquelette recouvert de poils et renfermant différents organes vitaux (Aymé, 2014).

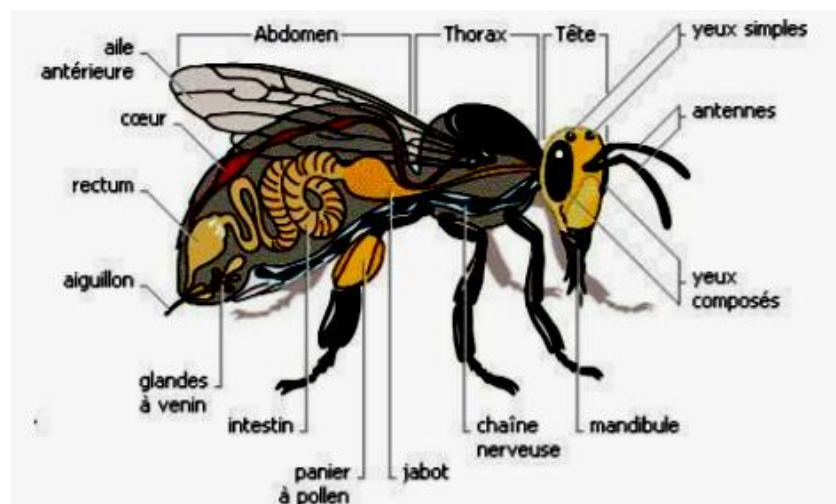


Figure 3: Morphologie d'une ouvrière (Hannebelle, 2010).

1.4.1. Tête

L'abeille possède deux yeux composés situés sur les deux faces externes de la tête, ces derniers sont au nombre d'environ 3000 chez les ouvriers et 7000 chez les faux bourdons (Duplan *et al*, 2012) ceci leur permet d'avoir un champ de vision très large. Elle possède

également trois yeux simple situés au sommet de la tête (figure 4) ayant un rôle dans la détection de l'intensité lumineuse ainsi que dans la vision de près (**Le conte, 2002**).

Les antennes qui sont situées à la base du front entre les yeux composés (figure 4) contiennent un organe appelé organe de Johnston, ce dernier responsable de l'équilibre et sensible aux mouvements, elles ont un rôle olfactif, ainsi des récepteurs au goût qui ne sont pas contenus dans la bouche (**Janine et al, 1974**).

L'appareil buccal qui est constituée de deux paires de mâchoires nommées les maxilles (figure 4), il y'a également une paire de pinces appelées mandibules plus d'une langue contenant un tube capillaire et une ventouse forment la Proboscis (**Janine et al, 1974**).

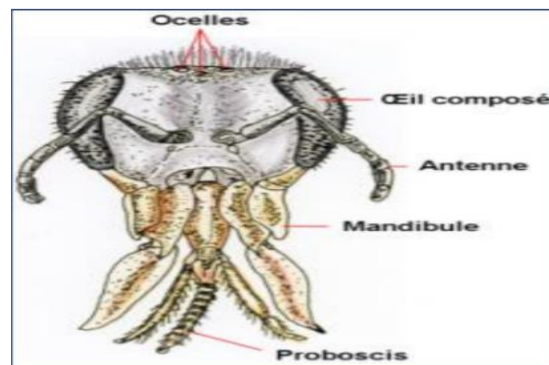


Figure 4: la tête d'une abeille avec ses proboscis étirés (**Aymé, 2014**)

1.4.2. Thorax

Le thorax de l'abeille est composé des pattes ainsi que des ailes, formé de 3 segments soudés; chaque segment porte une paire de pattes; deux paires d'ailes sont attachées sur le 2^{ème} et le 3^{ème} segment thoracique (**Biri, 2011**). Les ailes de la reine sont plus courtes que celles de l'ouvrière (**Clément, 2015**).

1.4.3. Abdomen

L'abdomen enfin, partie la plus importante en volume, comprend le jabot, les organes de digestion et le cœur. Il est composé sept segments chez les ouvrières, contrairement au faux bourdon où l'on dénombre huit au lieu de sept de même, il contient huit glandes cirières qui permettent la fabrication de la cire (**Lavie, 1960**).

1.5. Cycle biologique d'*Apis mellifera*

Les abeilles sont des insectes holométaboles, c'est-à-dire à métamorphose complète. En effet, elles sont complètement différentes à l'état larvaire et à l'état adulte. Au cours de son développement, l'abeille passe par une série de phases : l'œuf, la larve, la nymphe, l'adulte (Figure 05) (**Biri, 2011**).

Après l'accouplement, qui se produit au cours du vol nuptial, la reine fécondée retourne dans la ruche, s'installe au centre d'un rayon et commence à déposer un œuf dans chaque alvéole en suivant un mouvement circulaire du centre vers la périphérie (**Biri, 2011**).

1.5.1. Œuf

Il est blanc, translucide et ovale. Il mesure 1-1,5 x 0,5 mm et pèse entre 0,12 et 0,22 mg (**Wendling, 2012**). Une extrémité plus pointue permet l'adhérence à la paroi de l'alvéole. Initialement dressé verticalement dans l'alvéole, il s'incline pour finir complètement couché au bout de trois jours (**Jean-Prost et Le conte, 2005**).

1.5.2. Larve

Après ces trois jours d'incubation, une larve blanchâtre, apode et sans yeux éclot de l'œuf. Elle est arquée et grandit rapidement : son poids est multiplié par 1 800 en six jours seulement (**Le conte, 2004**) Pendant les trois premiers jours, toutes les larves sont nourries avec de la gelée royale. A partir du quatrième jour, certaines larves choisies par les ouvrières continuent à être alimentées par cette gelée, elles deviendront des reines. Les autres larves sont les futures ouvrières et sont nourries avec du miel et du pollen. Dès le sixième ou septième jour, les larves atteignent leur maturité et deviennent capables de se nourrir toutes seules. Une réserve de nourriture est déposée au fond des alvéoles, qui sont ensuite fermées avec de la cire, c'est l'operculation (**Spurgin, 2010**). Elle a lieu sept à huit jours après la ponte pour les œufs de reines, huit jours pour les œufs des ouvrières et neuf jours pour les œufs de faux-bourçons (**Wendling, 2012**).

1.5.3. Nymphe –adulte

A l'intérieur du couvain operculé, la larve subit plusieurs mues successives puis tisse un cocon très fin à l'intérieur duquel elle se transforme en nymphe. Initialement blanchâtre, la cuticule se sclérose et se pigmente progressivement. La nymphe reste immobile et ne

s'alimente pas (**Spurgin, 2010**). Le stade nymphal dure environ 8 à 9 jours pour les ouvrières et les faux-bourçons, 4 à 5 jours pour les reines. Il est suivi de la 6^e émet et dernière mue appelée mue imaginale qui va faire passer la nymphe au stade adulte (**Winston, 1993**). La jeune abeille perce l'opercule pour sortir de l'alvéole (**Winston, 1993**).

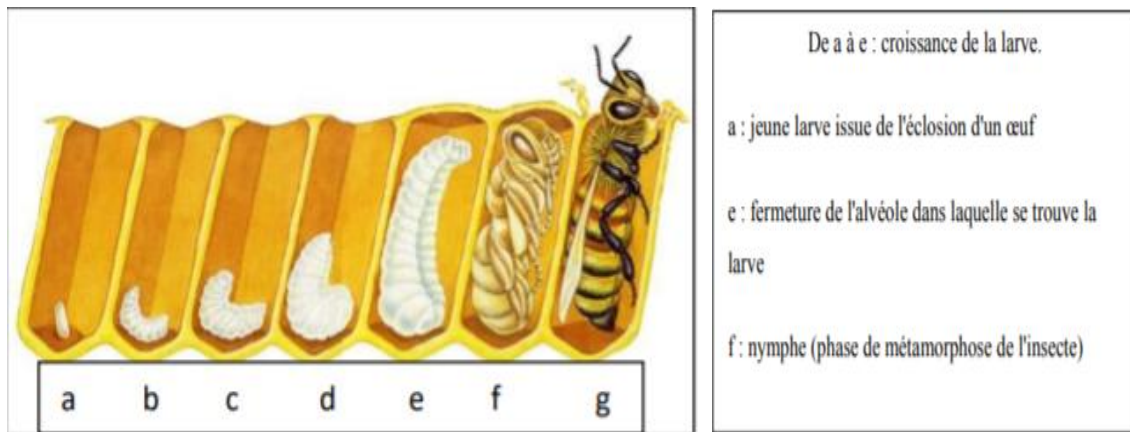


Figure 5: les grandes étapes du développement commun aux trois castes d'abeille (**Biri, 2010**).

1.6. Nutrition et durée de vie

1.6.1. Nutrition

La nutrition des abeilles est basée sur deux aliments essentiels : le miel et le pollen. Le Miel qui constitue un apport glucidique couvrant des besoins énergétiques (**Alleaume, 2012**). Le pollen, seul source de protéine, est indispensable au développement des larves (**Chauzat et al, 2010**) et aux jeunes adultes notamment, alors que Les larves et les adultes dépendent des réserves de la colonie pour être alimentés. Un stock insuffisant ou de mauvaise qualité peut conduire à une nutrition inadaptée des adultes : leurs performances de récolte et de soins au couvain seront alors moins bonnes. La prochaine génération d'adultes sera alors également impactée par l'alimentation inadéquate du couvain leur nombre et leurs capacités d'ouvrières et de butinage seront amoindris. En conséquence, le stock de la colonie sera de plus en plus insuffisant (**Brodshneider, Crailsheim, 2010**).

1.6.2. Durée de vie

La durée de vie des abeilles dans la ruche est différente selon les saisons et la race, car les abeilles d'hiver vivent plus longtemps que les abeilles d'été et Les auteurs signalent aussi des

variations dans la durée de vie des ouvrières en provenance de colonies différentes (**Roger et al 1966**).et généralement :

La reine : les reines vivent pendant plusieurs années (**Haubruge et al, 2006**)

Le faux bourdon : Leur durée de vie est courte : entre 30 et 40 jours (**Snodgrass, 2018**).

Les ouvrières : leur de vie de 15 à 70 jours pour les abeilles d'été et de 170 à 243 jours pour celles d'hiver (**Fluri, 1994**).

1.7. Les rôles de l'abeille domestique

Les abeilles domestiques *Apis mellifera* un être vivant indispensable à l'équilibre environnemental dans le monde, jouent un rôle primordial dans les diverses phases de la vie de nombreuses espèces végétales et animales Telle que :

- ✚ Pollinisateur de très nombreuses espèces végétales (**Barrouhou, et Abdessamed, 2020**).
- ✚ La production du miel, de la propolis, de la gelée royale, du pollen, et de la cire (**Barrouhou, et Abdessamed, 2020**).
- ✚ Le maintien de la diversité génétique (**Anderson et al, 2011 ; Krupke et al, 2012**).
- ✚ Contribuent considérablement au rendement et à la qualité de trois quarts des plantes cultivées par l'homme (arbres fruitiers, cultures oléo-protéagineuses, cultures maraîchères) (**Klein et al 2007**).

1.8. Les facteurs influencent les pertes de colonies

Plusieurs facteurs affectent les abeilles mellifères et leur production, notamment :

1.8.1. Facteurs environnementaux

L'influence de l'environnement sur l'abeille domestique est liée à certains facteurs et conditions, notamment les ressources alimentaires et le climat (**Wahl et Ulm, 1983**). Parmi ces facteurs nous citons :

- ✚ La dégradation de l'environnement conduit à un manque de disponibilité en plantes à pollen et mellifères, donc à un manque de nourriture pour les abeilles. Or, les carences

alimentaires augmentent la sensibilité des abeilles aux insecticides (**Wahl et Ulm, 1983**).

- ✚ Des conditions climatiques défavorables au développement de l'abeille (périodes de sécheresse et de chaleur alternant avec des périodes où la pluviosité est très importante) (**Caron et al, 2005**).
- ✚ Disponibilité en eau insuffisante (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Manque de zones refuges et de ressources nutritives (nectar, pollen, ...) (**Haubruge et al, 2006**).

1.8.2. Facteurs au tropique

Manque de dialogue entre les apiculteurs et les agriculteurs, mais également entre les apiculteurs eux-mêmes (**Haubruge et al, 2006**), qui peuvent provoquer une destruction des colonies d'abeille par l'utilisation des produits phytosanitaires parmi les pratiques de l'homme qui menacent la survie de l'abeille domestique :

- ✚ Application de pesticides non adéquate par le particulier (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Manque de connaissances en élevage des apiculteurs la suite de l'abeille domestique (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Utilisation de pesticides (intoxication) (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Carburant de l'enfumeur non adapté (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Traitement des ruches non adapté (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Nourrissement inadapté (quantité, qualité) (**Haubruge et al, 2006**).
- ✚ Les dangers biologiques ou xénobiotiques exercent (**Requier, 2013**).
- ✚ Pollution local causé par les industries (**Haubruge et al, 2006**).

1.8.3. Maladies de l'abeille domestique

Un large éventail de maladies et d'organismes nuisibles peuvent affecter l'abeille domestique et nuire à son développement ou à la productivité des colonies (**Boucher et al, 2011**). Le (tableau 1) présente un portrait sommaire des pathogènes et parasites les plus problématiques en apiculture.

Tableau 1: les maladies de l'abeille domestique fréquemment rencontrées

Maladie	Agent biotique responsable	Stades de l'abeille touchés	Description et impact sur la colonie
Acariens parasites			
Varroase	<i>Varroa destructor</i>	Couvain et adulte	Plus important problème sanitaire affectant les abeilles. Maladie parasitaire très contagieuse pouvant causer la perte de la colonie (Boucher, 2011). (figure 06)
Acariose	Acarien des trachées (<i>Acarapis woodi</i>)	Adulte	est une maladie parasitaire qui touche le système respiratoire de l'abeille domestique (Aymé, 2014). provoque des troubles physiologiques graves telles que l'obstruction des trachées et la dégénérescence des muscles (Biri, 2010). (Figure 07)
Nosérose	<i>Nosema apis</i> <i>Nosema ceranea</i>	Adulte	La nosérose est une maladie parasitaire qui se développe dans le tube digestif de l'abeille au niveau de l'intestin moyen (Adjlane, 2012). (Figure 08)
Mycoses			
Couvain plâtré	<i>Ascophaera apis</i>	Couvain	Généralement peu dommageable. Peut représenter un risque élevé pour les colonies affaiblies. Contamination avec de la nourriture larvaire contaminée (Boucher, 2011)
Maladies virales			
Le virus de paralysie chronique, ou maladie noire	Elle est liée à la multiplication du CPV (Chrome Paralysis Virus)	abeilles adultes	est une maladie infectieuse, Elle est liée à la multiplication du CPV (Chrome Paralysis Virus) dans le tissu nerveux et l'intestin se manifeste par la perte des poils, cuticule brillante et des ailes parfois écartées (Adjlane, 2012).
Maladie des ailes déformées	Virus des ailes déformées des adultes nouvellement émergées (Pernal, 2015)	Tous les stades	Virus de l'abeille domestique le plus répandu dans le monde. Cause des malformations et la mort précoce.
Maladies bactériennes			
Loque américaine	<i>Paenibacillus larvae</i>	Couvain	Maladie du couvain la plus dévastatrice à l'échelle mondiale. Très contagieuse, peut rapidement causer la perte des colonies d'un rucher (Boucher, 2011).
Loque européenne	<i>Melissococcus pluton</i> <i>Paenibacillus alvei</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	Couvain	Maladie contagieuse largement répandue Cause généralement peu de dommages (Boucher, 2011). (figure 09)



Figure 6: des ailes écartées et déformées (adjlane, 2012).



Figure 7: *Acarapis woodi* observé avec microscope électronique (Delfinado *et al*, 1982).



Figure 8: Trace de diarrhée provoquée par la nosérose sur la colonie (Adjlane, 2012).



Figure 9: symptômes de la loque européenne sur un cadre du couvain (Adjlane, 2012).

- 1 - Opercules troués par les abeilles nettoyeuses qui cherchent à éliminer les larves atteintes.
- 2- Des larves avec une teinte jaunâtre.
- 3 - Une larve saine.
- 4 - Un couvain operculé.

1.9. Ennemis de l'abeille domestique

Les abeilles et les ruches (miel, pollen, cire, couvain) sont une cible pour de nombreux prédateurs. Ceci peut être des Arthropodes, des Oiseaux, des Mammifères... Ainsi les ours, les rongeurs, de nombreux micro mammifères et de nombreux oiseaux sont mellivores non exclusifs. Chez les arthropodes, les lépidoptères *Galleria mellonella* et *Achroea grisella*, également appelés respectivement grande fausse teigne et petite fausse teigne sont responsables de dégâts importants dans les ruches. Les hyménoptères fournissent un lot important de prédateurs : fourmis, guêpes et frelons. Frelon asiatique qui provoque des ravages dans les colonies, se nourrissant notamment d'ouvrières butineuses (Vidal-Naquet, 2012). Et aussi trouve des ennemis chimique en utilisé les produits phytosanitaires, Il est responsable de dégâts majeurs qui déstabilisent toute une filière (Charriere, 2006).

1.10. Défense de la colonie d'abeilles face aux agents pathogènes

Différents éléments, tant à l'échelle individuelle qu'à l'échelle de la colonie, vont participer à la défense de la colonie d'abeilles face aux agents pathogènes :

1.10.1. Une défense sociale

- ✚ La défense est assurée surtout par le comportement hygiénique des ouvrières et l'intervient des gardiennes (Boecking et Spivak ,2008).

- ✚ la présence, au sein des colonies d'abeilles, d'ouvrières spécialisées dans l'activité de retrait des abeilles malades et des cadavres en dehors de la ruche (1 à 2 % des ouvrières) (**Visscher, 1983**).
- ✚ Ce système de défense peut être assuré également par une protection physiologique :
 - l'utilisation de substances complexes à propriétés antibactériennes comme la cire, la propolis, le miel (**Fries et Camazine, 2001**).
 - la courte espérance de vie et le remplacement rapide par des individus sains (**Boecking et Spivak, 2000**).

1.10.2. Une protection individuelle

La première barrière de la protection individuel est assurée par :

- la cuticule chitineuse qui constitue une barrière entre milieu externe et interne (**Boecking et Spivak, 1999**).
- la couche cireuse externe qui empêche l'évaporation de l'eau (**Boecking et Spivak, 1999**).
- la valve proventriculaire capable de filtrer les spores ingérées (**Boecking et Spivak, 1999**).

La deuxième barrière Les insectes ont un système immunitaire inné permettant une réponse immune humorale et cellulaire régulé par de nombreux gènes. La réponse immunitaire peut être appréciée en suivant l'expression de gènes codant pour des enzymes de l'immunité (ex : le phénol oxydase, le glucose deshydrogénase, le glucose oxydase, le lysozyme, l'éther) ou en quantifiant les peptides antimicrobiens (ex : l'abaecine, la défensine, l'apidaecine, l'hymenoptaecine). Le nombre de marqueurs de l'immunité est en constante évolution depuis l'amélioration des techniques de biologie moléculaire (**Di Prisco et al, 2011**).

Chapitre 02 :

L'Ascospérose

2.1. Généralités sur *l'Ascosphérose*

Ascosphaera apis (Spiltoir et Olive, 1955). De la famille des *Ascosphaeraceae* est responsable chez *Apis mellifera* d'une des seules mycoses du couvain. Cette maladie est due au champignon ascomycète hétérothallique à reproduction sexuée. Le surnomme « la maladie du couvain plâtré ». Ce champignon est présent dans le monde entier. C'est une maladie contagieuse non réglementée. Le champignon va se disséminer grâce à ses spores. Ingerées, les spores se développent dans le tube digestif et traversent la muqueuse digestive. Après avoir traversé la paroi digestive ou la cuticule, le mycélium envahit tous les tissus de la larve. Les larves peuvent ingérer le parasite à tout âge, cependant, ce sont les larves sous couvain operculé qui présentent les symptômes de la maladie.

2.1.1. Historique et répartition géographique de *l'Ascosphérose*

Le chalkbrood a été identifié au XVIII^e siècle par Maassen. Au milieu du XIX^e siècle, elle a été détectée en Russie et dans plusieurs pays européens. Vers 1960, d'autres signalements de ce champignon sont venus de Nouvelle-Zélande et d'Amérique du Nord. Depuis l'agent pathogène s'est répandu aux États-Unis, en Alaska et à Hawaï. Dans les années 1980, la maladie est apparue en Argentine, au Chili, en Amérique centrale, au Mexique, au Japon, aux Philippines, en Israël et en Turquie. En 1993, elle a été identifiée en Australie. En Afrique, la maladie a été signalée en Tunisie en 1985, mais au cours de la dernière décennie, elle a également été trouvée en Ethiopie, en Afrique du Sud, en Egypte et au Nigeria. Les conditions prédisposant au développement de la maladie de la craie sont plus répandues dans les régions à climat froid et humide. La maladie se développe lorsque le couvain est affecté par le stress physiologique du froid. Cependant, des niveaux élevés d'infection ont été documentés dans les zones alpines éthiopiennes de temps sec et de différents climats dans le pays (Albo *et al*, 2017).

2.1.2. Position systématique de l'agent causal

Règne	Fungi
Division	Ascomcota
Sous-division	Pezizomcotine

Classe	Eurotiomycetes
Sous-classe	Eurotiomycetidae
Ordre	Ascosphaerales
Famille	Ascosphaeraceae
Genre	Ascosphaera
Espèce	<i>Ascosphaera apis</i> (Spiltoir et Olive, 1955).

2.2. Bioécologie de l'ascosphérose *Ascosphaera apis*

2.2.1. Distribution spatiale de l'ascosphérose

Cette maladie fongique est largement répandue dans les régions tempérées et plus fréquente au printemps, lorsqu'il y a une augmentation du couvain dans la ruche (**Boudegga, 2010**). Et distribuée sur le fond de la ruche (**Fluri *et al*, 1998**) et apparaît sur les larves de couvain couvertes (**Spiltoir et Olive, 1955**).

2.2.2. Étapes de formation des spores d'*Ascosphaera apis*

Après la fécondation entre un hyphes femelle et un hyphes mâle, nous assistons à la formation d'un primordium d'ascogone (A). Le nutriocyte commence à se gonfler (B). Ceci constitue un hyphes ascogonale primaire qui occupe tout le volume interne du nutriocyte dilaté (C), l'ensemble correspondant à l'ascoma (D). Ensuite de jeunes asques se constituent à l'intérieur de l'ascoma (E) qui ont ensuite éclaté pour libérer les spores (F) (Figure 10). (**Chahbar, 2017**).

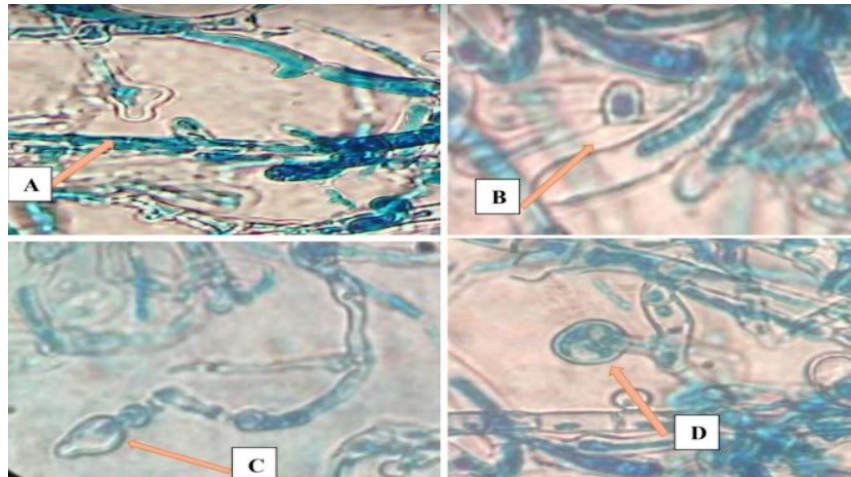


Figure 10: Les étapes de formation des spores *d'Ascosphaera apis* (Chahbar, 2017).

La production de kystes de spores a été enregistrée après 15 jours poste-infection (Palacio *et al*, 2007). Après cette formation (spores), des larves momifiées de couleur noir ont été observées (Palacio *et al*, 2007).

2.2.3. Étude de différentes formes de champignon *Ascosphaera apis*

Cette souche fongique est caractérisée par deux formes distinctes, la forme de résistance et la forme végétative. La forme de résistance *d'Ascosphaera apis* est les kystes des spores sphériques, mesurant entre 47 μm et 140 μm de diamètre (figure 11). Ces kystes contiennent de nombreuses balles des spores, mesurant entre 15 μm et 32 μm , composés par des spores hyalines (figure 12). *Ascospheara apis* est un champignon filamenteux. Les hyphes (la forme végétative) sont cloisonnés, 2,5-8 μm de diamètre, avec des ramifications dichotomiques prononcées (figure 13) (Chahbar, 2017).

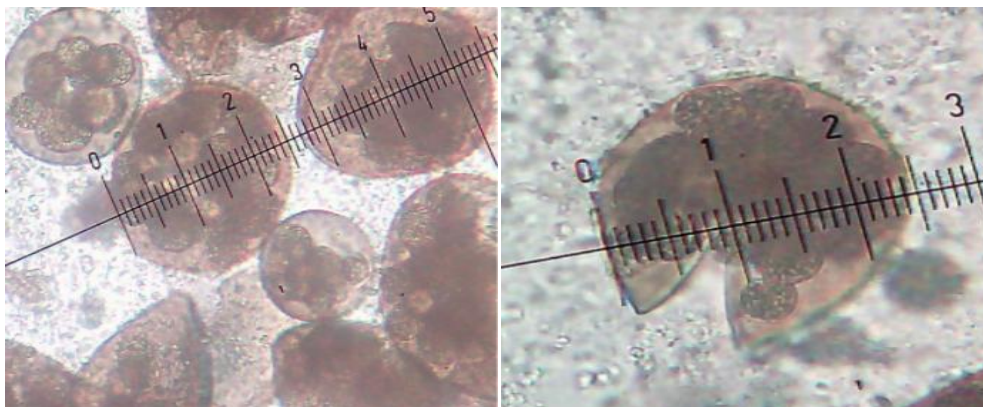


Figure 11: aspect microscopique des kystes *d'Ascosphaera apis* (Gr X400) (Chahbar, 2017).

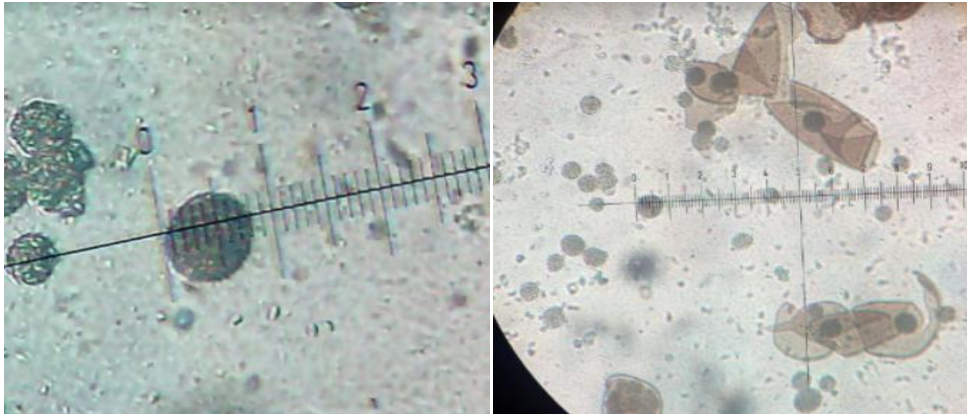


Figure 12: Aspect microscopique des balles de spores *d'Ascosphaera apis* (Gr X 400) (Chahbar, 2017).

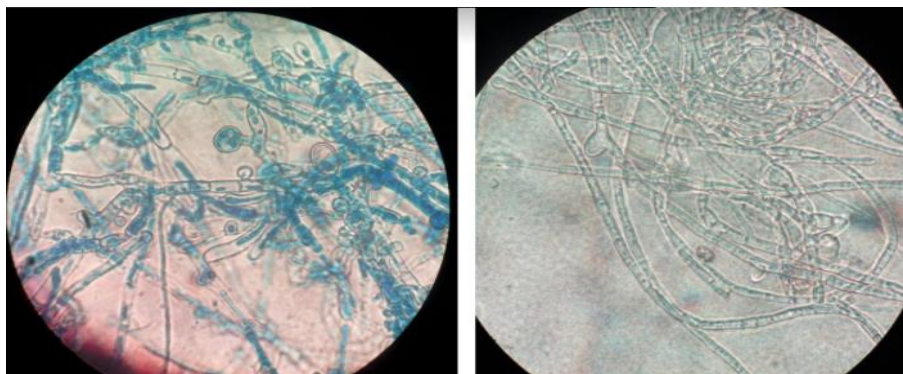


Figure 13: Aspect microscopique de mycélium *d'Ascosphaera apis* (Gr X 400) (Chahbar, 2017).

2.2.4. Croissance mycélienne de champignon *Ascosphaera apis*

La durée de germination de champignon est entre 5 et 8 jours dont la température optimale est de 20°C à 30°C. La croissance mycélienne est maximale (jusqu'à 84 mm) après environ 6 jours de germination (figure 14). Les caractéristiques des champignons consistaient en des caractéristiques coloniales telles que la taille, l'aspect superficiel, la texture et la couleur des colonies. De plus, le mycélium végétatif exposé à la microscopie, y compris la présence ou l'absence de parois croisées, le diamètre mycélien et les types structuraux de la reproduction sexué et asexuée (Pornpukdeewattana *et al*, 2017).

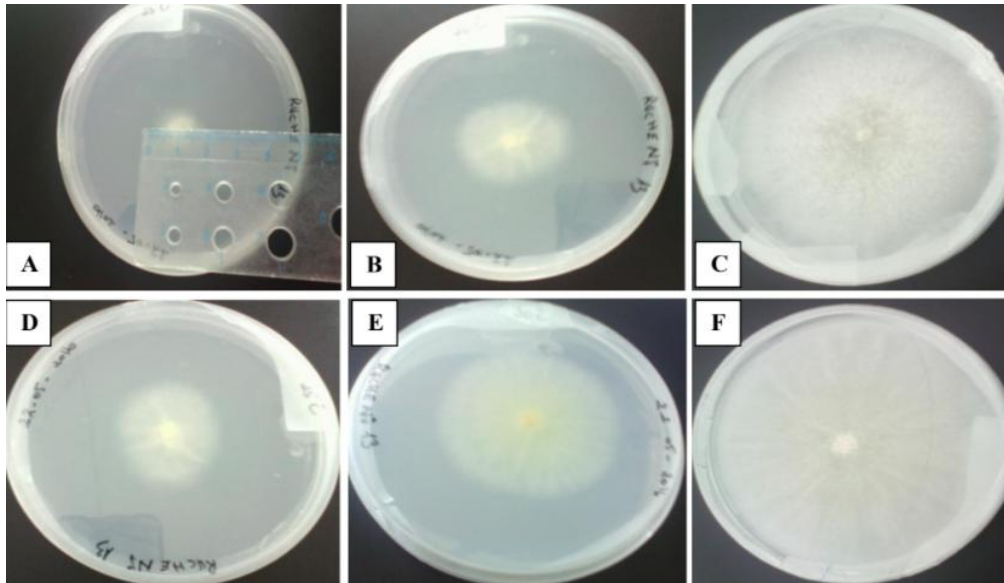


Figure 14: les étapes de croissance mycélienne dans une température optimale (25°C à 30°C), mesurée chaque 24 heures A, B et C : la croissance mycélienne d'*A. apis* dans une température de 25°C ; D, E et F : la croissance mycélienne d'*A. apis* dans une température de 30°C (Chahbar, 2017).

2.3. Les facteurs de stress déclenchant la maladie

Les larves d'abeilles domestiques sont plus sensibles à l'infection par la loque lorsque la colonie dépendre des facteurs suivants:

➤ Humidité excessive

L'humidité relative joue un rôle important dans le développement de la maladie. La plupart des auteurs supposent la prévalence de la maladie dans les régions humides ou pendant les périodes de forte humidité à l'intérieur de la colonie (Flores *et al*, 1996).

➤ Température

Le stade de production du tube germinatif est corrélé avec la plage de température optimale de 31- 35 °c. Ce qui fait de ce champignon un pathogène hautement spécialisé qui vit à l'intérieur des abeilles (Liang *et al*, 2000).

➤ PH

La valeur du pH comprise entre 5 et 7,8 n'a pas affecté la germination des spores de manière significative, mais un environnement acide, $\text{pH} < 5$, a réduit de manière drastique l'agrandissement et la production de tubes germinatifs (**Liang *et al*, 2000**).

➤ La présence d'autres maladies

Agents pathogènes et prédateurs peuvent gravement diminuer la population des colonies, on observe une augmentation de l'incidence de l'infection par la loque dans les colonies d'abeilles mellifères infestées par *V. jacobsoni*. Puisque, la surface du corps des acariens peut devenir contaminée par des spores fongiques et les propager (**Ball, 1997**).

➤ mauvaise alimentation

Pendant la saison estivale une pénurie de plantes en fleurs, oblige les apiculteurs à nourrir les abeilles avec un aliment aqueux (sucre serb) ce qui augmente l'humidité à l'intérieur de la ruche et accroît l'incidence de la maladie (**Hadid, 2002**).

➤ Une nutrition inadéquate (**Palacio *et al*, 2007**).

➤ Une manipulation excessive des colonies et refroidissement du couvain (**Palacio *et al*, 2007**).

2.4. Pathogenèse

Les infections à *Ascospaera* se produisent après avoir pénétré dans l'intestin des ascospores qui peuvent infecter le couvain des ouvrières, des faux-bourçons ou des reines. Le chemin de l'infection commence par :

➤ La consommation d'aliments contaminés par des spores sexuelles d'*A. apis* par les larves d'abeilles (**Albo *et al*, 2017**).

➤ Les larves d'abeilles du 2^{ème} et 3^{ème} stades larvaires, sont les plus sensibles à la maladie. Dans le 4^{ème} stade larvaire, et après Vingt-quatre heures de l'infection, les premiers signes se manifestent par une réduction de l'alimentation. et après 48 heures, le couvain d'abeilles meurt. Enfin, après 72 heures, les mycéliums fongiques deviennent visibles à la surface du cadavre. Le site conditions micro-aérophiles présentes dans l'extrémité postérieure de l'intestin pourraient activer et induire la germination des spores qui ont été consommées par les larves d'abeilles. Ensuite, les

hyphes pénètrent dans la membrane péri-trophique et la paroi intestinale pour finalement entrer dans l'hémocèle. De plus, la pression causée par les hyphes septés et l'activité enzymatique favorisent l'accès à l'espace interstitiel entre les fibres musculaires des larves infectées. . Le mycélium fongique envahit la cavité corporelle, à l'exception de la tête du couvain. Plus tard, le mycélium fongique devient brun ou gris en raison de la production de kystes de spores (Albo *et al*, 2017).

2.5. Mode de propagation

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

2.6. Caractères macroscopiques et microscopiques d'*Ascosphera apis*

Cette partie d'étude base sur les caractères macroscopiques et microscopiques d'*Ascosphaera apis*.

2.6.1. Aspect macroscopique d'*Ascosphera apis*

Parmi les symptômes typiques de *d'Ascosphera apis* sont les suivants :

- couvain clairsemé (Fluri *et al*, 1998).
- des larves momifiées, dures et blanches (Thurber, 1979).
- opercules déchirés (Fluri *et al.*, 1998).
- formation autour des larves d'un amas cotonneux de filaments mycéliens blancs qui occupe l'alvéole (Thorstensen, 1976).
- apparaît un couvain en mosaïque et des momies blanches ou noires.

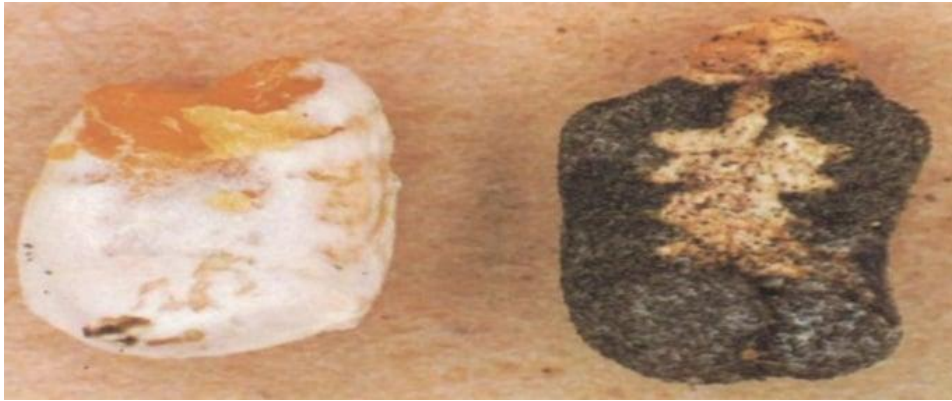


Figure 15: deux momies de couvain à *l'Ascosphérose* (Infoma, 2008).

2.6.2. Aspect microscopique d'*Ascospheera apis*

En montant un matériel malade, des "momies qui sont devenues grises ou noire" sur une lame de microscope. La présence de kystes de spores est généralement suffisante pour faire un diagnostic. Ces kystes de spores, d'un diamètre d'environ 60 μm , contiennent des corps ronds plus petits appelés "boules de spores" (environ 12 μm de diamètre) (Hornitzky, 2001).

2.7. Dégâts de l'ascosphérose

Malgré l'impact négligeable d'*A. Apis* sur la santé des colonies, l'infection peut résulter en des pertes importantes en termes de nombre d'abeilles et de productivité des colonies notamment les suivantes (Aronstein et Murray, 2010) :

- réduction de la production de miel de 1 à 5%, une réduction de force de la colonie 23% et une réduction de 49% du butinage (Heath, 1982; Zaghloul *et al*, 2005).
- Si à la surface du corps des mycéliums mâles et femelles se rencontrent, il se forme un corps de fructification noir contenant de nouvelles spores qui constitue la forme de résistance (Jones, 2005).
- Les larves infectées meurent de lésions mécaniques et enzymatiques, d'une perturbation de la circulation de l'hémolymphe et d'une toxicose générale (Glinski et Buczek, 2003).

2.8. Lutte contre l'ascosphérose

Pour lutter contre la maladie, il existe un certain nombre de techniques qui peuvent être utilisées pour minimiser les effets de la maladie.

2.8.1. Techniques de gestion

_ Renforcer les colonies gravement malades en ajoutant de jeunes abeilles adultes, **(Hornitzky, 2001)**.

_ Ne permettant pas aux abeilles d'hiverner dans une chambre à couvain trop grande. **(Hornitzky, 2001)**.

_ Augmenter l'entrée de la colonie pour la ventilation en période humide est recommandée **(Hornitzky, 2001)**.

_ éviter le transfert de rayons entre colonies pour empêcher la propagation des spores **(Flores et al, 2005)**.

_ Le traitement par rayonnement gamma à 10 KGray peut être utilisé pour stériliser le matériel de la ruche et comme traitement sanitaire de routine des équipements apicoles **(Baggio et al, 2005)**. Le bromure de méthyle gazeux a également été utilisé pour désinfecter du matériel contaminé **(Sanford, 1987)**.

2.8.2. Lutte chimique

À l'aide de fongicides chimiques, d'acides organiques, de produits phytochimiques et de réactifs de lutte biologique **(Liu, 1991)**.

2.8.3. Contrôle par des produits naturels

Pour éliminer *l'ascosphérose* on a essayé de nombreux produits naturels telle que (huile de riz, huile de cannelle, gasoil, l'huile de clou de girofle, huiles de fenouil, gingembre, l'huile d'origan, henné, et les vapeurs d'un mélange d'acide géranique et nérolique, de 2-heptanone, d'acétate d'isopentyle, d'acide octanoïque et d'huiles de citronnelle et de mélisse avaient ...ect), avec différentes concentrations. Dont certains produits ont donné un effet négatif, et d'autres produits ont été positifs contre la croissance de *l'ascosphère* Pendant une période de temps

spécifiée (Gochnaur *et al*, 1979 ; Calderone *et al*, 1994 ; Dellacasa *et al*, 2003 ; Davis et Ward, 2003 ; Ruffinengo *et al*, 2006 ; Abou El-Enain *et al*, 2009).

2.9. Méthodes de lutte contre les agents pathogènes

Pour lutter contre les agents pathogènes, il est impératif d'examiner le couvain ainsi que les abeilles adultes afin de le dépister dans la colonie prise en considération. Les méthodes de lutte utilisées actuellement peuvent être réparties en trois grandes catégories, les deux premières étant les plus largement employées : les méthodes chimiques à base d'acaricides de synthèse, les méthodes biologiques à base d'acides organiques ou d'huiles essentielles et les méthodes mécaniques ou populationnelles (Mondet *et al*, 2016).

2.9.1. Méthodes chimiques

La lutte chimique regroupant plusieurs molécules à propriétés acaricides, qui sont efficaces. Toutefois leur utilisation à long terme, présente des dangers, tels que la présence de résidus dans le miel et surtout l'apparition de souches d'acariens résistants aux molécules actives (Habbi-Cherifi *et al*, 2019).

2.9.2. Produits naturels

Consiste à l'utilisation de certains acides organiques, les huiles essentielles et les champignons notamment suivants :

2.9.2.1. Les acides organiques

Consiste à l'utilisation de certains acides telle que :

2.9.2.1.1. L'acide oxalique

La teneur naturelle du miel en acide oxalique est très variable (3,3–761,4 mg.kg⁻¹) et dépend de l'origine botanique du nectar (Rademacher et Harz, 2006). Contre les agents pathogènes, l'acide oxalique peut être appliqué (Meimaridou *et al*, 2006):

- Par dégouttement dans une solution sucrée versée directement sur les abeilles dans les passages inter-cadres.
- Sous forme de cristaux qui se subliment dans la ruche.

- Par pulvérisation d'une solution aqueuse sur les abeilles.

2.9.2.1.2. Acide formique

L'acide formique est la molécule actuellement reconnue pour son action efficace sur les agents pathogènes (Calderon *et al*, 2000).

2.9.2.2. Aromathérapie (les huiles essentielles)

Selon Kotwal *et al*, (2013), les huiles essentielles sont des sous-produits du métabolisme secondaire de certaines plantes. Les plantes ont développé l'utilisation potentielle de ces huiles pour se défendre. Elles présentent une efficacité variable selon les molécules, leur association et les dosages utilisés. Néanmoins leur utilisation en combinaison avec plusieurs huiles essentielles et d'autres principes actifs pourrait fournir des solutions dans la gestion de la lutte contre les agents pathogènes.

2.9.3. Méthode biologique (Utilisation des champignons)

Les champignons ont été également objet de recherche pour évaluer leur efficacité dans la lutte contre les agents pathogènes et de ces champignons *Beauveria bassiana* et *Metharhiziumanisoplia* ont donné des résultats satisfaisants et prometteurs comme un nouveau moyen de lutte alternative (Rodriguez *et al*, 2009).

2.9.4. Lutte biotechnique

Repose sur le fait que les acariens sont piégés à l'intérieur des cellules du couvain et peuvent être éliminés de la colonie d'abeilles avec le couvain. Un modèle, valide de rayon-piège basé sur les taux d'invasion des cellules du couvain par les acariens, est utilisé ici pour estimer et comparer l'efficacité des diverses méthodes utilisant le rayon-piège (Calis *et al*, 1999).

2.9.4.1. Blocage de ponte de la reine

L'encagement de la reine suivi d'un traitement hors couvain à l'acide oxalique pourrait représenter une alternative intéressante (Droz, 2015).

2.9.4.2. Piégeage des parasites dans du couvain de mâles

Comme les varroas préfèrent pondre dans les cellules du faux bourdon, il est possible de les piéger en fournissant un cadre avec de telles cellules (**Charrière *et al*, 2003**).

2.9.4.3. Plateaux grillagés

C'est une méthode économique, facile. Il s'agit de la première mesure biotechnique permettant de réduire la progression des maladies. Le principe étant de laisser un espace entre le grillage et le fond du plateau, pour les rendre incapable de regagner la colonie par leurs propres moyens, les acariens restent alors prisonniers au fond de ces plateaux (**Habbi-Cherifi, 2019**).

2.9.3.4. Les autres luttés contre les agents pathogènes

- Préparation: repérage géographique (savoir lire une carte) (**Nicolas, 2011**).
- Visite sanitaire: anamnèse, historique, registre d'élevage, connaissance de la conduite d'élevage et des techniques apicoles (**Nicolas, 2011**).
- Etude de l'emplacement et de l'entretien du rucher et des ruches (**Nicolas, 2011**).
- Examen clinique proprement dit (**Nicolas, 2011**) :
 - Examen à distance (à 1m/1m50).
 - Examen rapproché (à 20 à 50 cm).
 - Ouverture de la ruche: Examen du matériel, des cires, du couvain, des ouvrières, de la Reine... (**Nicolas, 2011**).

Chapitre 03 :

Généralités sur la propolis

3.1. Histoire de la propolis

La propolis est un remède naturel qui est utilisé depuis les temps anciens. En effet, les égyptiens connaissent très bien les propriétés anti-putréfiantes de la propolis et l'utilisaient pour embaumer les cadavres. Les propriétés médicinales de la propolis étaient reconnues par les médecins grecs puisqu'Aristote la signale comme un remède aux infections de la peau, plaies et suppuration dans son « histoires des animaux ». Les Romains l'ont donné à tous les soldats pour soigner leurs blessures pendant les différentes invasions. Les anciens textes grecs rapportent que les médecins l'utilisaient pour la fabrication de baumes. Les médecins arabes l'utilisaient comme antiseptique et cicatrisant dans le traitement des plaies, et par les Incas qui l'employaient en tant qu'agent antipyrétique. Parmi les usages non médicaux, nous citons son emploi comme vernis pour le traitement des violons, ce qui leur donne un meilleur son et les protéger contre le ver de bois (**Abida et al, 2021**).

3.2. Définition de la propolis

La propolis est une substance résineuse composée d'un mélange de différentes parties de plantes et de molécules sécrétées par les abeilles. Chimiquement, elle est définie comme une matrice complexe contenant des molécules biologiquement actives ayant des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiparasitaires, hépatoprotectrices et immunomodulatrices. Il est largement employé dans les formulations cosmétiques et les produits pharmaceutiques et constitue l'un des produits naturels les plus utilisés. Cependant, les effets et la force de ces activités biologiques dépendent du profil chimique et de la composition de chaque type de propolis. Cette composition est associée à la diversité de la flore locale, au lieu et à la période de collecte, et à la génétique des abeilles (**Santos Laerte et al, 2019**).



Figure 16: Abeilles porteuses de propolis dans la colonie (**Simone-Finstrom et Spivak, 2010**).

3.3. Origine de la propolis

Il existe plusieurs types de propolis qui en fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone, de la disponibilité des végétaux pendant la saison (**El Housseini, 2013**) ; ils sont des exsudats de plantes recueillis par les abeilles, (bourgeons de peupliers, pin, bouleau, châtaigne, érable, et lipophile, et les substances sécrétées par les plaies, des résines ou des gommes végétales) (**Debab et al, 2017**).

3.4. Origine botanique de la propolis algérienne

Selon la flore Algérienne, nous peut en déduire que notre propolis est à l'origine en pin (*Pinus sp*) qui occupe les régions semi arides : chêne (*Quercus suber* et *Quercus canariensis*), châtaignier, cyprès, peuplier, et casuarina se trouve dans le nord- est du pays (**Debab et al, 2016**).

3.5. Collecte de la résine par les abeilles

La propolis est collecte par des abeilles âgées. Cette collecte s'effectue schématiquement en plusieurs étapes à savoir

_ La butineuse fait d'abord usage de ses antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source (**Touati et Garnelkabeche, 2021**).

_ L'abeille mord et arrache des morceaux de résine de plante avec ses mandibules (**Bradbear, 2010**), les mélangent avec d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis (**Bouhala et Chefrour ,2012**). Et les entasse dans les corbeilles à pollen de ses pattes antérieures. Chaque corbeille peut transporter 10 mg de résine (**Bradbear, 2010**).

_ Durant le retour à la ruche, ils sont vraisemblablement modifiés en partie par l'apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) (**Donadiou, 2008**). Et la porteuse de la propolis se dirige vers une zone de construction où il y a besoin de cette substance et montre aux autres abeilles ce qu'elle a récolté (**Jacob, 2004**).



Figure 17: butineuses de propolis dans la ruche (**Abir et al, 2020**)

La quantité collectée est très variable. Elle est sous la dépendance de facteurs qui conditionnent la propre collecte par les abeilles (**Bouhala et Chefrour ,2012**). Qui déterminent selon :

3.5.1. L'âge de l'abeille : L'âge de l'abeille : Il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui collectent la résine. L'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées, l'âge minimal est de dix-huit jours (**Ferhoum, 2010**).

3.5.2. La race : La tendance à propolis dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasiennne (*Apis mellifica caucasia*) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille carniolienne (*Apis mellifica carnica*) et l'abeille Tellienne (*Apis mellifera*). Mais dans de nombreux autres cas, les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises (**Ferhoum, 2010**).

3.5.3. La saison : La collecte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage (**Ferhoum, 2010**).

3.5.4. Le climat (dont la température) : Les abeilles colleteuses de résine déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C) et en outre, pendant les heures les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10 et 15h 30h en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires (**Ferhoum, 2010**).

3.5.5. La géographie : C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propulsent davantage que les ruches de plaine (**Ferhoum, 2010**).

3.6. Récolte de la propolis par l'homme

La propolis peut être récoltée selon des diverses techniques :

3.6.1. Grille à propolis du commerce

Au début de période de production, on place des grilles à propolis du commerce achetées sur le marché local au-dessus du corps de ruche (Figure 18 A). Au-dessus de cette grille, on place une hausse vide (sans cadres) qu'on couvre de couvre-cadres et du couvercle. A l'issue de la période de production, la grille de chaque ruche est enlevée et scellée en sac plastique portant le numéro de la ruche d'où on l'a retiré (Figure 18 B), acheminée au laboratoire puis placée au congélateur pendant 24 heures. A cette basse température, la propolis devient rigide et cassante, la rendant facile à enlever. Puis chaque grille est frottée à part dès la sortie du congélateur. Les morceaux sont recueillis et pesés à l'aide d'une balance électronique. La propolis obtenue de ces grilles est mise dans des pots en verre et placée au congélateur (**Guermah et al, 2021**).



Figure 18: Récolte de propolis par l'homme par grille à propolis du commerce

A : Mise en place de la grille à propolis du commerce **B :** Grille à propolis tachetée de propolis à la récolte (Guermah *et al*, 2021).

3.6.2. « CPI » ou Collecteur de propolis intelligent

Des planchettes mobiles couvertes d'un film transparent (Figure 19 A) sont placées sur les parties latérales des ruches (Figure 19 B). Le film transparent permet le passage de la lumière qui stimule les abeilles qui vont s'empresse de le boucher avec de la propolis. Les plaques seront recouvertes de propolis et il ne restera qu'à la récolter. La durée de chaque période de production était ici d'un mois et dix jours. On retire les planchettes (Figure 19 C) et la propolis est enlevée en forme de lanières à l'aide d'un couteau. La propolis obtenue de chaque ruche est pesée puis recouverte avec du papier aluminium et placée au congélateur (Guermah *et al*, 2021).



Figure 19: Récolte de la propolis par l'homme par "CPI" ou collecteur de propolis intelligent

A : Préparation des planchettes mobiles.
B : Planchette mobile placée sur la ruche.
C : Planchette à la récolte (Guermah *et al*, 2021).

3.7. Propriétés physico-chimique de la propolis

La caractérisation physico-chimique de la propolis est très importante pour l'obtention d'un produit de qualité standardisé, tel que le réclame le marché. La variété des sources de propolis a, bien évidemment, une influence sur sa composition (Krell, 1996).

3.7.1. Propriétés physique

La propriété physique qui est constitué notamment les caractéristique suivant :

3.7.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Tableau 2: propriétés organoleptiques de la propolis

Couleur	Elle varie selon sa provenance, allant de jaune clair au brun très foncé, presque noire en passant par toutes les gammes des bruns (brun jaune, brun vert et brun rouge) (Tosi <i>et al</i> , 2006).
Saveur	Elle est souvent amère et âcre (Tosi <i>et al</i> , 2006).
Odeur	Elle a une odeur variable suivant son origine, en général, arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc...) (Tosi <i>et al</i> , 2006).

3.7.1.2. Consistance

La propolis est une substance de consistance variable suivant la température

_ 15 °C, elle est dure et friable.

_ 30 °C elle est molle et malléable.

_ Entre 30 °C et 60 °C elle est coulante et gluante (Tosi *et al*, 2006) jusqu'à fondre en moyenne vers 60-70°C ou plus (El Housseini, 2013).

3.7.2. Propriétés chimique

Tableau 3: propriétés chimique de la propolis

Solubilité	La propolis est Insoluble dans l'eau à froid. Elle est, en revanche, partiellement soluble dans l'acétone, l'alcool, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, etc. Il importe de noter que la propolis est beaucoup plus soluble dans une solution de soude caustique à 296 (Abir et al, 2020).
Densité	La densité de la propolis est de 1,2 soit supérieure à celle de l'eau (Donadieu, 2008).
Point de fusion	Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties : _ une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient. _ une partie liquide appelée cire de propolis, qui reste en surface et qui a de nombreux usages dans le domaine apicole (Letonturier, 2007).

3.8. Composition de la propolis

L'origine botanique dont sera issue la propolis constitue le principal facteur responsable de sa composition spécifique. L'autre facteur sera les modifications générées à travers les sécrétions hypopharyngiennes de l'abeille qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone) De manière générale (**Cardinault et al, 2012**):

- **La résine** : La résine et baumes est un constituant majeur de la propolis représentant 55%.
- **Les cires et acides gras** : sont un constituant de la propolis représentant 30 %.
- **les huiles essentielles** : sont un constituant de la propolis représentant 10 %.
- **pollen** : est un constituant de la propolis représentant 5 %.
- **La matière minérale** : La propolis est constituée de 5% de matières minérales. on retrouvera beaucoup de flavonoïdes et autres dérivés phénoliques ainsi que leurs esters, des dérivés aromatiques volatils, des minéraux (fer, calcium, zinc, cuivre, manganèse) et des vitamines (C, E et du groupe B) (**Cardinault et al., 2012**).

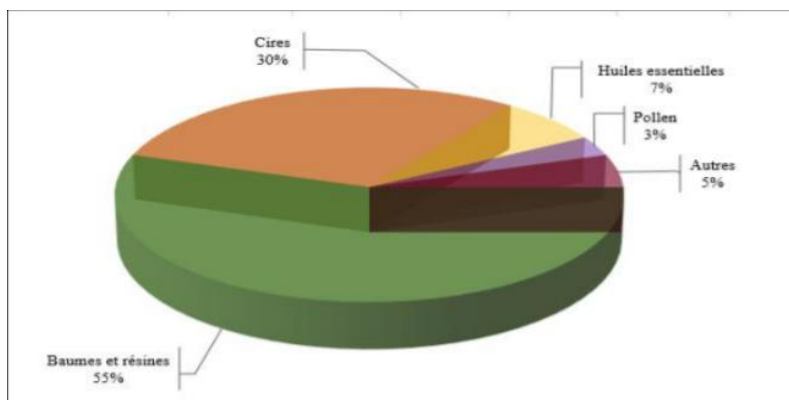


Figure 20:Composition moyenne globale de la propolis (Amigou, 2016).

3.9. Propriétés thérapeutiques de la propolis

3.9.1. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne comprend plusieurs activités, dont les suivants :

3.9.1.1. Action antibactérienne

Les différentes études mécanistiques suggèrent que la propolis et/ou ses composés pourraient inhiber la croissance bactérienne par blocage de la division cellulaire, par une désorganisation du cytoplasme, par une inhibition de la synthèse protéique ou par une inhibition du processus d'adhésion. Certaines études ont montré que des souches résistantes, voire multirésistantes aux antibiotiques, étaient sensibles à la propolis. Il a également été montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en association avec certains antibiotiques, augmente leur efficacité (streptomycine, ampicilline, gentamycine, cloxacilline...) (Cardinault *et al*, 2012).

3.9.1.2. Action antivirale

Les études ont montré que la propolis et/ou ses constituants (apigénine, chrysin) possèdent un effet prophylactique contre le virus de la grippe, en atténuent les symptômes à travers une action antineuraminidase. La propolis et ces constituants étaient efficaces contre de nombreux virus : myxovirus, poliovirus, coronavirus, rotavirus, adénovirus et un potentiel anti-VIH (Cardinault *et al*, 2012).

3.9.1.3. Action antifongique et antimycosique

La propolis a montré une activité contre différents champignons. Il a été étudié que la propolis inhibe les champignons aflatoxigéniques et diminue également la croissance des conidies chez *Aspergillus flavus*. La propolis montre une activité contre *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* et *Candida albicans*. Dans une autre étude, une propolis française a été utilisée efficacement contre les pathogènes fongiques humains *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Aspergillus fumigatus* (Anjum *et al*, 2019).

3.9.1.4. Action antiparasitaire

La propolis est efficace dans le cas d'infections par certains parasites comme le *Toxoplasma gondii* implique dans la toxoplasmose, particulièrement dangereux chez les femmes enceintes, ou encore contre les *Trichomonas*, *Trypanosoma cruzi* (responsable de la maladie du sommeil) ou *Giardia lamblia* (parasitose intestinale). Le produit de la ruche empêcherait la croissance du parasite, sans que les principes actifs de celui-ci ne soient clairement identifiés (Cardinault *et al*, 2012).

3.9.2. Propriété antioxydant

D'après les connaissances scientifiques, les antioxydants permettent de prévenir de nombreuses maladies de types dyslipidémie, hypercholestérolémie, diabète voire de cancer. Plusieurs études *in vitro* ont montré le pouvoir antioxydant de la propolis. La diminution du stress oxydant est due à la présence de polyphénols, de flavonoïdes ainsi que d'acide caféique et d'artépilline C. l'activité antioxydant de la propolis correspond à 70% de celle de la vitamine C (Boisard *et al*, 2016).

3.9.3. Propriété anticancéreux et immuno-modulatrice

La propolis et ses composants phénoliques exercent un effet anticancéreux et des propriétés chimio-préventives par mécanisme d'action multiple affectant les voies apoptotiques dans des cellules cancéreuses. L'extrait de la propolis et les polyphénols isolés à partir de propolis ont été capables de sensibiliser les cellules cancéreuses à l'apoptose induite par TRAIL (Szliszka *et al*, 2013).

3.9.4. Propriété anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de la propolis proche de l'aspirine, est dose dépendant. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats. Les flavonoïdes en sont responsables, en inhibant la synthèse de NO et de PG, inducteurs d'inflammation et en supprimant la production de cytokines inflammatoires par les monocytes/ macrophages. Des études ont montré que son action est intéressante dans les trachéites et pharyngites liées à une intubation prolongée pendant une intervention chirurgicale. Les composés terpéniques agiraient également dans l'action anti-inflammatoire (**Gharbi, 2011**).

3.9.5. Propriété anesthésique

La propolis possède une action anesthésiante, ceci grâce à l'activité des huiles volatiles de celle-ci. Cette action n'est pas issue d'un mécanisme central comme la morphine et n'a pas d'effets indésirables comme la cocaïne (collapsus, malaises, etc.) (**Touati et Garnelkabeche, 2021**).

La propolis est largement utilisée comme un anesthésique de contact en chirurgie dentaire, aussi elle remplace la morphine et la cocaïne dans les anesthésies locales (**Castaldo et al, 2002**).

3.9.6. Propriété cicatrisant et régénératrice

La propolis possède une propriété cicatrisante par un effet stimulant le métabolisme cellulaire, la circulation et la formation du collagène. Les processus de prolifération de l'épithélium au sein du chancre de la peau brûlée et une régénération active de plaie (**Clément, 2015**).

3.10. Utilisation de la propolis**3.10.1. Utilisation de la propolis par les abeilles**

- ✓ La propolis est utilisée par les ouvrières pour colmater les fissures et les trous de leur ruche (**Touati et Garnelkabeche, 2021**).
- ✓ comme substance antiseptique pour enrober un corps étranger putrescible, qu'elles ne parviennent pas à évacuer de la ruche (**Touati et Garnelkabeche, 2021**).
- ✓ employée pour enduire les alvéoles et en générale tout l'intérieur de la ruche (**Touati et Garnelkabeche, 2021**).

- ✓ aseptisation de la ruche (**Ferhoum, 2010**).
- ✓ assurer une meilleure isolation thermique (**Ferhoum, 2010**).

3.10.2. Utilisation de la propolis par l'homme

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tel que :

3.10.2.1. Utilisation traditionnelle

Elle est utilisée comme un puissant antibiotique naturel pour prévenir certaines maladies telles que les maladies hivernales, la grippe et l'angine, ainsi que certaines infections respiratoires. Elle est aussi reconnue pour renforcer l'immunité (**Sattler et al, 2015**).

3.10.2.2. Utilisation commerciale

La propolis servait également dans la fabrication des produits commerciaux qui sont en majorité des compléments alimentaires, produits de soins (pastilles, tablettes, crèmes, baumes, suppositoires) et d'hygiène (shampooing, savons, dentifrice) ainsi que les préparations magistrales en pharmacie (suppositoires, onguent, emplâtres) (**Krell, 1996**).

3.10.2.3. Autre utilisation

- **Technologie alimentaire** : La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture (**Ranfaing, 2017**). Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (**Ferhoum, 2010**).
- **Le cosmétique** : La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (**Gregory et al, 2002**). Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés par exemple dans le cas de tissus abîmés (**Touati et Garnelkabeche, 2021**). Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications
- Utilisée dans la fabrication des vernis pour instruments de musique, pour cacheter les bouteilles et pour cirer le matériel apicole, c'est un excellent produit antirouille (**Hausen, 1987**).

3.11. Forme galénique

La forme galénique de la propolis est très variable, ce qui facilite son administration et son utilisation. Elle est soit seul composant, soit associée avec d'autres produits à visée thérapeutique ou cosmétologique sous sa forme naturelle, débarrassée de toutes les impuretés diverses susceptibles de la souiller (fibres de bois, poils d'abeille, etc).

Sous forme d'extraits purifiés : fluide, mou ou sec selon l'usage thérapeutique envisagé. Ou sous forme Granulés ou poudre, en vrac ou en gélules à avaler ou excipients variés tels que : la vaseline, la lanoline, et la cire d'abeille, etc (**Donadieu, 2008**).

Tableau 4: les formes galéniques de la propolis (**Donadieu, 2008**).

Mode d'usage	Les formes galéniques
Voie générale interne	<p>Gélules</p> <p>Gélules de poudre pour ultrafine destinés aux indications par voie générale interne, les affections touchant les appareils : digestif et génito-urinaire.</p>
	<p>Sirop</p> <p>Sirop à boire associant la propolis à des extraits de plantes à des huiles essentielles, indiqué pour les affections broncho-pulmonaires.</p>
Voie local interne	<p>Bain de bouche</p> <p>Flacon de liquide à diluer dans de l'eau pour lavage de bouche et gargarismes afin de combattre la mauvaise haleine, prévenir les inflammations de la muqueuse buccale.</p>
Voie externe locale	<p>Crème</p> <p>Tube de crème pour application locales dans de très nombreuses indications dermatologiques.</p>
	<p>Baume d'En Calcat à la propolis</p> <p>Élaboré à partir de propolis, de cire d'abeille, d'huiles végétales ainsi que d'huiles essentielles. Ce baume est indiqué pour un meilleur confort musculaire et articulaire (arthrose).</p>

3.12. Conservation

La propolis est un produit stable et inaltérable dans le temps, si elle est conservée dans les flacons opaques, et à l'abri de la lumière et à une température ambiante (à 10 ou 12°C de préférence) , encore plusieurs années, elle ne perd pas ses propriétés pharmacologiques et antibiotiques et sa teneur en composants chimiques reste la même, Cependant, pour en obtenir de meilleurs effets et résultats, il vaut toujours mieux l'utiliser la plus fraîche possible **(Krell, 1996)**.

Différents traitements peuvent être appliqués à la propolis, dans le but d'isoler et garder les éléments solubles de celle-ci, aux propriétés pharmacologiques intéressantes

3.12.1. Les teintures

Sont obtenues par dilution de la propolis dans une solution d'alcool à 70 %. L'alcool peut ensuite être évaporé. Les cires, peu solubles dans l'alcool à basse température sont éliminées. Les teintures contiennent de 3 – 30 % de propolis. Il est également possible de réaliser des solutions aqueuses de propolis **(Gharbi, 2011)**.

3.12.2. Les extraits

Les extraits mous sont obtenus après reconcentration de la teinture officinale par évaporation partielle. Les principes actifs sont présents à fortes concentrations et les cires absentes. Ils peuvent être utilisés comme tel redilués dans de l'alcool ou de l'eau, ou en association avec d'autres matières actives. Les extraits secs sont obtenus par évaporation totale de la teinture **(Gharbi, 2011)**.

3.13.3. La lyophilisation

Elle permet une conservation indéfinie sous vide jusqu'à reconstitution **(Gharbi, 2011)**.

Partie II: Partie pratique

Chapitre 01: Matériels et Méthodes

Ce chapitre est consacré pour la description des différents matériaux et des produits chimiques utilisés. Ainsi dans cette partie nous allons détailler les méthodes et les techniques suivies tout au long de ce travail.

1. L'objectif de cette étude

L'objectif de cette étude, est d'évaluer l'activité antifongique des extraits éthanoliques préparés à partir de la macération de propolis dans une solution d'éthanol à 90%. Donc nous allons tester ces extraits sur une souche fongique isolée à partir d'une colonie d'abeille atteinte de la maladie du couvain plâtré *Ascospheera apis*.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Champignon

L'activité antifongique de la propolis provenant de deux régions est évaluée sur un seul isolat de Champignon *Ascospheera apis*. Nous avons choisi cette espèce fongique, car *Ascospheera apis* est parmi les espèces les plus dangereuses qui attaquent les colonies d'abeille provoquant des problèmes majeurs (**Fluri et al ,1998**).

2.1.2. Propolis

La propolis, également appelée mastic d'abeille ou colle d'abeille, est une substance produite par les abeilles à partir de la résine recueillie sur les arbres et les arbustes. Et d'arbustes, qui se combine à la cire d'abeille et aux sécrétions des glandes salivaires de l'abeille, riches en enzymes. Elle peut être jaune, brune ou presque noire, selon les plantes dont la plantes sur lesquelles la substance résineuse est recueillie. L'odeur de la propolis est intense et aromatique .L'utilisation de la propolis par l'homme a une longue histoire. Les Égyptiens l'utilisaient pour l'embaumement du corps car c'était le matériau plastique parfait qui protégeait davantage la momie des bactéries, de l'humidité, et de la chaleur. Protéger la momie des bactéries, des champignons et des virus. La propolis a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et hépato

protectrice. La propolis soluble dans l'eau ou dans l'alcool et ses nombreux composés ont été utilisés dans le traitement de l'inflammation, pour l'immuno-stimulation, et comme agent anticancéreux. Le site Les propriétés susmentionnées de la propolis en font un matériau inhabituel d'origine naturelle, caractérisé par une composition spécifique (Diana *et al*, 2012).

2.1.2.1. Lieu et période de la récolte

L'étude expérimentale a été faite en utilisant deux (02) échantillons de propolis qui sont récoltés dans deux régions d'Algérie, Tiaret et Tissemsilt. La propolis a été récoltée à l'aide d'une méthode de grattage à l'intérieur de la ruche. Afin d'éviter la détérioration de ses composants, la propolis brute était stockée dans le congélateur à -20°C , à l'abri de la lumière.

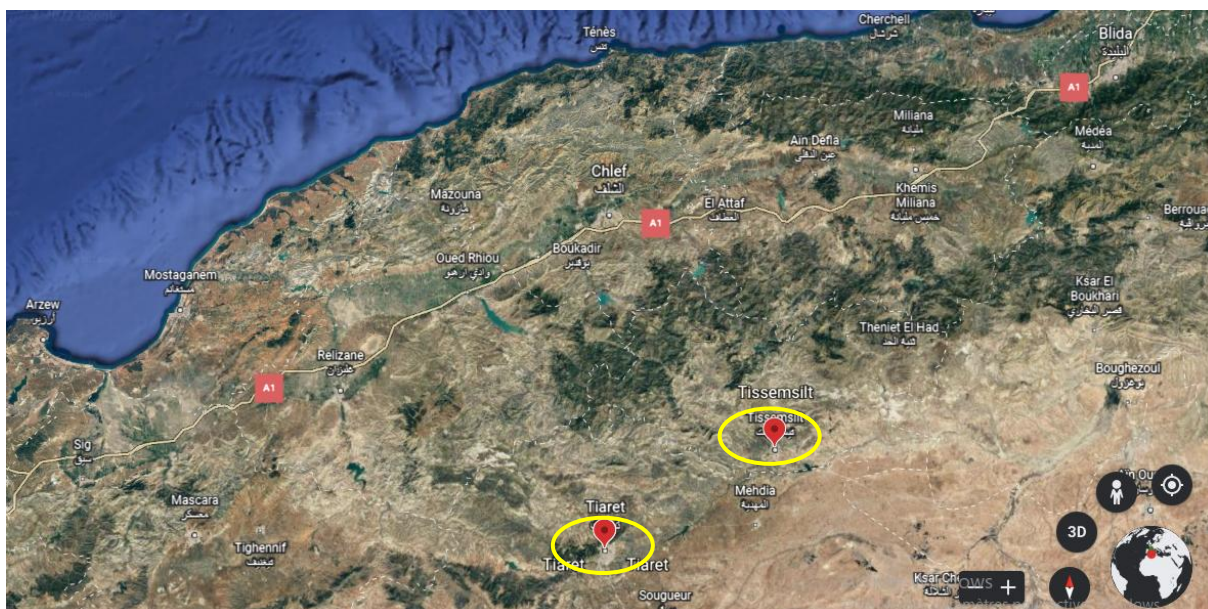


Figure 21: Localisation géographique des deux régions d'étude

2.1.2.2. Présentation des lieux de la récolte

La première issue de la wilaya de Tissemsilt qui est située au sud-ouest d'Alger. Elle est comprise entre $1^{\circ}18'E$ et $2^{\circ}18'E$ de longitude et $35^{\circ}32'N$ et $36^{\circ}00'N$ de latitude nord. Environ 80 kilomètres de monts couvrant une superficie de 3 173 km² (Andi, 2013). Est proposé trois ensembles distincts selon la nature géomorphologique. 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 (Andi, 2013). Le climat de la région de Tissemsilt est de type méditerranéen, caractérisé par un hiver froid et pluvieux qui s'étale de

Novembre à Avril et un été chaud et sec et long s'étalant d'Avril à octobre, où les températures moyennes varient de 13° à 16° (Andi ,2013).

Cette wilaya recouvre une flore riche et diversifié engendrée par l'existence de 157 espèces (figure 22). Les familles les mieux représentées sont: Astéracées, Poacées et Fabacées. En plus on trouve Le chêne liège souvent mélangé avec des essences forestières telles que: le chêne vert, le chêne zeen, le cèdre de l'Atlas et le genévrier oxycedre (figure 23,24,25) (Sarmoum et al ,2013).

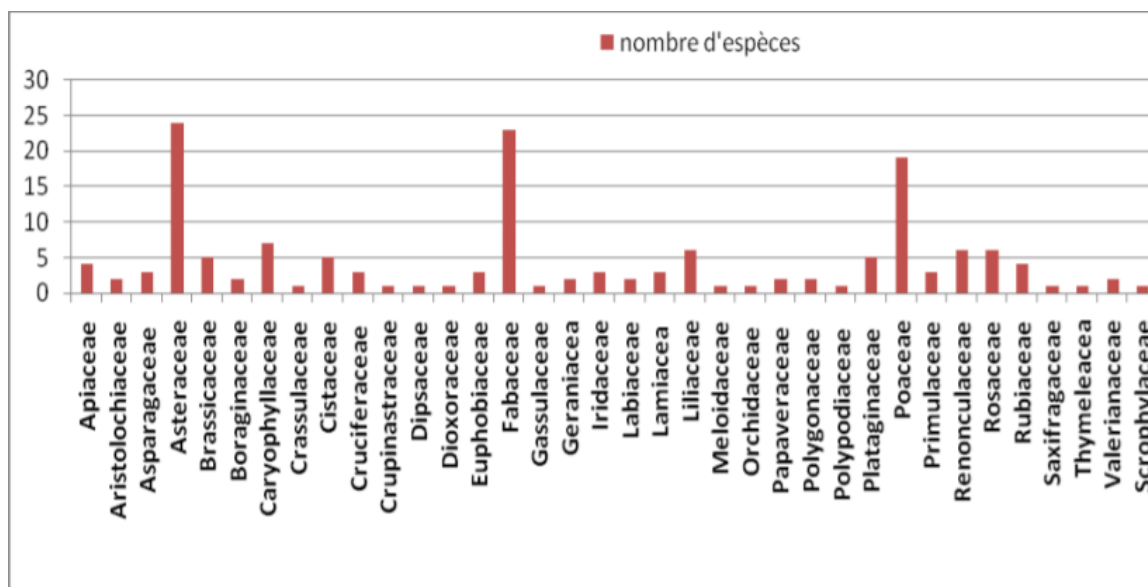


Figure 22: les espèces végétales présentées dans la wilaya Tissemsilt (Sarmoum *et al*, 2013).

La Deuxièmes, c'est la wilaya de Tiaret située à l'ouest du pays se présente comme une zone de contact entre le Tell au nord et les hautes plaines au sud. Le territoire de la wilaya est constitué de zones montagneuses au nord, et les hautes plaines au centre. Au sud la variation des reliefs et le caractère hétérogène de l'espace, induit une variété des paysages agricoles et autres espaces naturels. Cette région s'étend sur un espace délimité entre 0°.34' à 2°.5' de longitude et 34°.05' à 35°.30' de latitude nord. Elle couvre une partie de l'atlas Tellien au nord, et les hauts plateaux au centre et au sud (Ait Hammou *et al*, 2011).

Cette position géographique, et la diversité de son relief, subit des influences climatiques conjuguées des grandes masses d'air, de l'exposition du relief, et de l'altitude. En effet, pendant la saison hivernale, les masses d'air froides provenant de l'Atlantique rencontrent les masses d'air chauds et humides ce qui provoque une instabilité et des perturbations climatiques à l'origine des pluies hivernales parfois intenses. Durant la saison estivale

naissent les masses d'air tropicales liées à l'anticyclone des acores prédominant et provoquent une zone de haute pression à l'origine d'un type de temps sec et ensoleillé qui perdure jusqu'à la fin du mois de septembre et début octobre. L'étude climatique de la région de Tiaret a montré une nette régression des précipitations pour passer de 600 mm à 360,4 mm, accompagnées d'une augmentation des températures durant le vingtième siècle. Cela va sans doute s'apercevoir sur le paysage végétal de la région et même au niveau des rendements agricoles (Ait Hammou *et al*, 2011), Le massif forestier de Guezoul au nord de la ville de Tiaret semble renfermer beaucoup de plantes sauvages et spontanées vu sa diversité floristique et écologique. Il est constitué par des formations pré forestières de Chêne vert, de Chêne liège et de Thuya de Berberie, avec notamment le pin d'Alep et le cyprès (figure 23, 24 ,25) (Miara *et al*, 2013).

2.1.2.3. Quelques plantes sources de la propolis dans les régions d'étude

Il existe de nombreuses plantes sources de propolis, dont les suivantes :



Chêne-liège



Chênezeen

Figure 23: chêne (Moudir, 2004)



Figure 24: Cyprès (Cupressus sp) (Moudir Naima, 2004)



Figure 25: pin (pinus sp) (Moudir Naima, 2004)

2.1.3. Matériels de laboratoire

Tableau 5 : Matériels de laboratoire

Appareillages	Verreries et petit matériel	Les solutions
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Bain marie ➤ Autoclave ➤ Balance ➤ Etuve à 28°C ➤ 2 Bec benzène ➤ Agitateur magnétique 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Les Boites Pétri ➤ Pipettes pasteur ➤ Entonnoir ➤ Éprouvettes graduée 50ml, 100ml. ➤ Pissette d'eau distillée ➤ Flacon ➤ Papier filtre ➤ Erlenmeyer ➤ verre de montre ➤ para film 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eau distillé ➤ Éthanol à 90° dégré ➤ Blue de méthylène ➤ Sabouraud dextrose agar déshydraté.

2.2. Méthodologie utilisée

Notre travail est basé sur les étapes suivantes

1 préparation de milieux de culture

2 Préparation des l'extraits éthanoliques de la propolis

3 Isolement et identification de champignon l'ascosphérose *Ascosphaera apis*

4 Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de la propolis.

5 Taux d'inhibition

6 les analyse statistique

2.2.1. Protocole de la préparation de milieux de culture

On met 65 g de Sabourand dextrose Agar dans un bécher de 2000 ml avec 1000 ml d'eau distillée, l'ensemble est placé sur une plaque chauffante agitateur jusqu'à l'ébullition. On remplit le milieu obtenu dans des flacons en verre stérile de 180 ml et on les ferme avec des bouchons en cuivre, puis mettre les flacons dans un autoclave sous une Pression de 1,4 bar à la Température de 121°C pendant 15 minutes.

2.2.2. Protocole d'extraction de la propolis

Macération de 0,5(g) de propolis dans 10 (ml) de l'éthanol 90% avec une homogénéisation dans un agitateur pendant 1 heure. Puis mettre extraits de la propolis dans les flacons et recouvrez d'aluminium à l'abri de la lumière pendant deux semaines. Ensuite faire la **filtration** Avec papier filtre puis avec les filtres



Figure 26: la filtration de l'extrait de propolis

2.2.3. Isolement et identification de l'ascosphérose *Ascosphaera apis***2.2.3.1. Isolement de champignon**

Une partie de chaque prélèvement infecté (cire battue) est déposée stérilement et individuellement dans une boîte de Pétri contenant le milieu Sabourand dextrose Agar après un rinçage par l'hypochlorite de sodium à 10 % pendant 10 min. Après un lavage dans deux bains successifs par l'eau distillée, il faut incuber la boîte à 28°C pendant 5 jours (Jensen, 2013).

2.2.3.2. Purification

La purification a pour but l'obtention de colonies fongiques pures, spécifiques, afin d'identifier les champignons en cause. A l'aide de l'extrémité inférieure d'une pipette Pasteur stérile, nous coupons des disques mycéliens puis les transférer dans un nouveau milieu PDA, tout en prenant soin de mettre le mycélium en contact avec le milieu PDA. Il faut ensuite, incuber les boîtes de Pétri contenant les colonies fongiques à 28°C pendant 5 jours. L'opération doit être reprise jusqu'à l'obtention des colonies pures (Yilmaz *et al*, 2019).

2.2.3.3. Méthode d'identification

La souche fongique mise en causes est identifiée en utilisant des examens et des observations macroscopiques et microscopiques

2.2.3.3.1. Examen macroscopique

Il faut observer attentivement dans un endroit bien éclairé l'aspect du champignon, en vérifiant l'homogénéité des colonies (l'obtention des colonies identiques).

➤ Aspect macroscopique d'*Ascosphaera apis*

Les colonies sont blanches et denses, leurs diamètres varient entre 5cm et 8 cm. Après 8 jours de germination, le mycélium était blanc et aérien (figure 27)



Figure 27: Aspect macroscopique d'*Ascosphaera apis* ; Les colonies d'*Ascosphaera apis* sont blanches (Chahbar, 2017)

2.2.3.3.2. Examen microscopique

Les observations sous microscope concernent la morphologie des spores, leur taille et surtout la façon dont elles sont rattachées aux filaments (isolées en chaînes ramifiées, présence de produits phialides, ...etc). Cet examen peut se faire par un montage entre lame et lamelle avec l'ajout d'une goutte de bleu de méthylène ou d'une goutte d'eau distillée stérile.

➤ Préparation microscopique

La préparation est effectuée en prélevant une fraction de mycélium avec une aiguille stérile à l'extrémité de la colonie (car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif). Cet inoculum est déposé sur une lame contenant une petite goutte d'eau, ensuite il faut remuer délicatement pour avoir une préparation homogène. L'ensemble est recouvert d'une lamelle tout en évitant la formation des bulles d'air. Ensuite, observer rapidement au microscope optique au grossissement GX 40

➤ Aspect microscopique d'*Ascosphaera apis*

Les hyphes sont cloisonnés, leurs diamètres oscillèrent entre 2,5 μm et 8 μm , présentant des ramifications dichotomiques prononcées. Les fructifications sont des kystes de spores sphériques (Sporocytes ou ascoma) présentant un diamètre varie entre 47 μm et 140 μm . L'ascoma contient de nombreuses balles de spores (Asques), son diamètre varie entre 9 μm et 19 μm , produisant des spores hyalines (ascospores) dont leurs dimensions sont à l'ordre de 2.7 – 3.5 μm x 1.4 – 1.8 μm , longueur maximale et largeur maximale respectivement (figure 28).

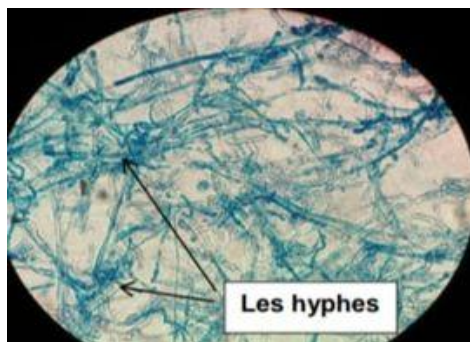


Figure 28 : Aspect microscopique d'*Ascosphaera apis* (Gr X 400) (Chahbar, 2017)

2.2.4.Évaluation de l'activité antifongique de la propolis

L'efficacité de la propolis, issues des deux régions, a été testée contre le champignon pathogène *Ascosphaera apis* pour évaluer son activité antifongique.

2.2.4.1. Préparation des deux extraits éthanoliques de propolis

➤ Principe

On prépare 05 dilutions dans chaque région par rapport le milieu culture avec (solution mère) puis on a réalisé des dilutions à partir de cette solution mère qui sont respectivement (10,15, 20, 25, 30) ml/1000) de propolis de Tissemsilt, (10,20, 40, 80, 120) ml/1000 de propolis de Tiaret et les remplissons dans les flacons.

➤ Mode opératoire

Pour l'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de la propolis, On met les flacons de milieu de culture dans un bain-marie pendant deux heures jusqu'à dissolution complète. Puis On a met séparément les doses de propolis dans 10 tubes coniques stériles. Ensuite on ajoute de chaque tube correspondant de série des tubes de dilution de propolis. On prépare le milieu de la culture dissoute et on remplit l'éprouvette graduée de 50 ml, puis on l'ajoute au premier flacon contenant 10 ml de Propolis, on mélange, puis on le vide dans les Boîtes Pétri .Où chaque flacons remplit trois Boîtes Pétri puis Laissez-le pendant 15 minutes jusqu'à ce qu'il durcisse au milieu de culture. Pour le témoin =milieu culture + éthanol de dose (10) + Champignon *Ascosphaera apis*.

➤ Ensemencement

A l'aide de l'extrémité inférieure d'une pipette pasteur stérile, Nous coupons des disques mycéliens puis les transférons dans un milieu Sabourand dextrose Agar, tout en prenant soin de mettre le mycélium en contact avec le milieu. On continue avec le reste des concentrations de la même façon.

➤ L'Incubation

Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 5 jours à 28°C (figure 29), la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en cm, de la zone d'inhibition. L'expérience est répétée trois fois pour chaque extrait de propolis et les résultats expérimentaux sont exprimés selon diamètres des développements du champignon *d'Ascospheara apis*



Figure 29 : incuber les boîtes de pétri dans une étuve à 28°C (Photo originale)

➤ La lecture

L'évaluation de l'activité antifongique des extraits éthanolique est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à différentes concentrations. La lecture a été faite par la mesure des diamètres des développements du champignon *d'Ascospheara apis* au tour des disques à l'aide d'un pied à colis. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et symbolisés par des signes (A et B) (la figure 30)

On classe les démettre de développement *d'ascosphaera apis* selon la longueur

A : démettre plus long (longueur)

B: démettre peu long (largeur)



Figure 30 : pris les mesures de diamètre des disques (photo originale)

D'autres chercheurs (**Krutmuang et al., 2020**) ont utilisé la même méthode pour mesurer le diamètre de l'inhibition des colonies du champignon. Les mesures sont effectués sur les axes X et Y (figure 31), puis le pourcentage moyen d'inhibition de la croissance de champignon a été estimé.

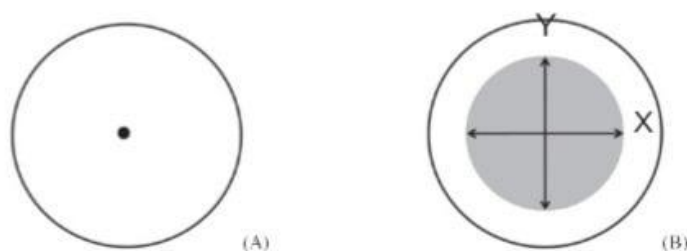


Figure 31 : la représentation de l'efficacité des vapeurs d'extraits de plantes dans l'inhibition de l croissance mycélienne du champignon (*ascosphaera apis*) sur le milieu. A : caractéristique de la mise en place du champignon sur le milieu, B: évaluation de l croissance fongique sur le milieu (**Krutmuang et al, 2020**).

2.2.5. Taux d'inhibition

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne est déterminé après 5 jours d'incubation à 28°C, en utilisant la formule d'Abbott (**Motiejunaite et Peiculyie, 2004**).

$$T = (DK - D0) / DK * 100$$

DK : diamètre de la colonie fongique du témoin (en mm).

D0 : diamètre de la colonie fongique en présence de l'extrait (en mm).

T : taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

2.2.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont effectuées par logiciel SAS version 9. La probabilité a été choisie à 95 %. L'analyse descriptive a été faite par la procédure Means afin d'estimer les moyennes et les écart-types. Un modèle linéaire généralisé (GLM) a été utilisé pour comparer entre les deux origines géographiques de propolis, ainsi pour comparer entre les différentes doses appliquées sur les colonies de champignons. Le test non-paramétrique de Wilcoxon a été choisi pour la comparaison des moyennes pour les deux diamètres estimés afin de comparer entre les différentes concentrations et origines géographiques de la propolis. Le groupement des doses homogènes a été réalisé en utilisant le test de Duncan-Waller dans SAS9.

Chapitre 02: Résultats et Discussions













1. Résultats et discussion

1.1. L'activité antifongique

Dans cette partie, nous avons testé l'activité antifongique et la capacité de neutraliser le développement des champignons (*ascosphaera apis*) dans un milieu de culture de deux types de propolis appartenant à deux régions différentes, à savoir Tissemsilt et Tiaret.

Après 5 jours d'incubation à 28 °C, on observe comparativement au témoin, une diminution progressive du développement de champignons au fur et à mesure que la concentration des extraits augmente dans les tubes expérimentaux. Cela s'observe pour toutes les boîtes. Est donc sensible aux extraits selon une relation dose- réponse le tableau ci- dissous présente les zones d'inhibitions dans la souche étudiée.

Tableau 6: les résultats du développement du champignon d'*Ascospheera apis* pour les deux origines de propolis

Origines géographiques	Les résultats et les dose					
Tissemsilt	 Témoin	 10ml	 15ml	 20ml	 25ml	 30ml
Tiaret	 Témoin	 10ml	 20ml	 40ml	 80ml	 120ml

Plusieurs chercheurs ont trouvé des résultats similaires par rapport les notres. L'inhibition enregistrée était inférieure à 50% (**Krutmuang et al, 2020**).

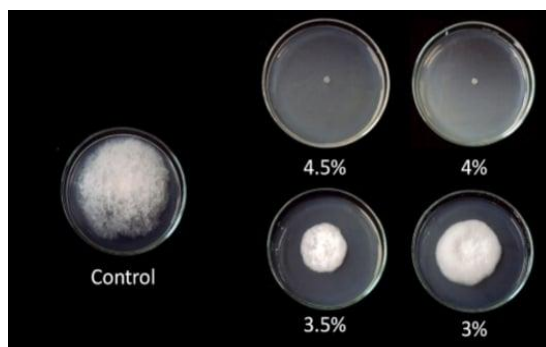




Figure 32 : efficacité de l'extrait d'origan dans l'inhibition de la croissance mycélienne *d'ascosphaera apis* 7 jour (Krutmuang et al, 2020).

1.2. Les caractéristiques de provenance des échantillons de propolis

Tableau 7: Présente les caractéristiques d'échantillons de propolis

Nombre des échantillons	1	1
Origine	Tissemsilt	Tiaret
Méthode de récolte	Par grattage	Par grille
La couleur de l'extrait	Marron clair 	Marron foncé 

Nous avons observé une différence de couleur entre les extraits de propolis provenant des régions d'étude. La propolis de Tissemsilt a une couleur marron clair contrairement à celle de la région de Tiaret qui s'observe avec une couleur marron foncé.

D'après notre recherche, nous suggérons une relation entre l'efficacité et la couleur de la propolis. Les deux régions d'étude sont caractérisées par trois environnements différents, agricole, pastorale et sylvicole (Andi, 2013 ; Ait Hammou et al, 2011). Ainsi, l'efficacité de la propolis se diffère d'une zone à une autre (Ferhoum, 2010).

1.4. Analyse descriptive de développement de champignon

Nous avons obtenu les résultats dénombrement et pour comparer les résultats de cette expérience nous effectuons le tableau des moyennes du développement d’*Ascospheera apis* en termes de concentration du propolis dans les deux régions Tissemsilt et Tiaret. Les résultats sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8:analyse descriptive du développement d’ascosphaera apis

origine géographique	les doses	Diamètre A	Diamètre B
TISSEMSILT	Témoin	8.83±0.38	8.36±0.35
	Témoin+ éthanol	5.1±0.61	4.3±0.30
	10ml/l	2.4±0.30	2.2±0.4
	15ml/l	2.23 ± 0.11	2 ±0.2
	20ml/l	2 ± 0.1	2 ± 0.1
	25ml/l	2 ± 0.23	2 ± 0.4
	30ml/L	1.6 ± 0.15	1.3 ± 0.2
TIARET	10ml/L	3 ± 0.05	3 ± 0.1
	20ml/L	3 ± 0.2	2.3 ± 0
	40ml/L	2.1 ± 0.1	2 ± 0.3
	80ml/L	1.4 ± 0.3	1 ± 0.2
	120ml/L	0.7 ± 0.05	0.3 ± 0.3

D’après le tableau 07, la longueur de diamètre de *l’ascosphaera apis* est de 2,4cm±0,30 et la largeur est de 2,2cm±0,4 dans une dose première de 10ml pour la propolis de Tissemsilt et de 3cm ± 0,05 longueur et 3 cm± 0,1 de largeur dans la même dose pour la propolis de Tiaret. Puis on a inscrit 2cm ± 0.1 de longueur et 2cm ± 0.1 de largeur à Tissemsilt dans une dose de 20 ml, et 3cm ± 0,2 de longueur, et 2,3 ± 0 cm de largeur à Tiaret pour la même dose.

Pour l’ensemble des disques, nous remarquons que le diamètre de *l’ascosphaera apis* commence à diminuer à partir de la 3^{ème} et 4^{ème} dose de 25 et 30 ml, donc on a inscrit 2cm ± 0,23 et 1,6cm ± 0,15 de longueur et 2cm ± 0,4, 1,3cm ± 0,2 de largeur dans la région de

Tissemsilt. Par contre le diamètre de *l'ascosphaera apis* de Tiaret ne diminua qu'à partir la 6^{ème} et 7^{ème} dose de 80-120 ml lorsqu'il atteint 1,4cm ± 0,3 de longueur et 1cm ± 0,2 de largeur dans une dose de 80 ml, 0,7cm ± 0,05 de longueur et 0,3cm ± 0,3 de largeur dans une dose de 120ml.

Tableau 9: le groupement des groupes homogène pour diamètres 1

Duncan groupement			Moyenne	Nb	Traitement
	A		8.8333	3	Témoin
	A				
	A		8.8333	3	Témoin
	B		5.0667	3	l'éthanol
	B				
	B		5.0667	3	l'éthanol
	C		2.9333	3	10 ml Tiaret
	C				
D	C		2.6	3	20 ml Tiaret
D					
D	E		2.3667	3	10ml Tissemsilt
D	E				
D	E		2.2333	3	15 ml Tissemsilt
D	E				
D	E	F	2.1	3	40 ml Tiaret
	E	F			
	E	F	2	3	20 ml Tissemsilt
	E	F			
G	E	F	1.9333	3	25ml Tissemsilt
G		F			
G		F	1.5667	3	30 ml Tissemsilt
G					
G			1.4	3	80ml Tiaret
	H		0.6667	3	120 ml Tiaret

D'après ces résultats, le développement de champignon est hétérogène entre les deux diamètres estimés, ce qui nous confirme que la croissance (la diffusion) de ce champignon n'est pas en cercle mais plutôt se fait-en deux Diamètre.

1.5. Relation extrait-l'efficacité d'éthanol

Nous avons trouvé, En utilisant un modèle linéaire généralisé, qu'il n'y a pas de différence significative entre les répétitions pour le Diamètre 1 (valeur de $F = 1.08$; $DDL = 2$; $N = 0.3550$) et le Diamètre 2 (valeur de $F = 1.25$; $DDL = 2$; $P = 0.3026$).

D'après les résultats obtenus, la différence est très hautement significative entre les différentes doses appliquées ($p < 0.001$). Effectivement le test de Duncun-waller indique que le groupe B est distinct et est représenté par le témoin appliquée en présence de l'éthanol. Ce groupe B est différent par rapport le groupe A qui contient seulement le témoin sans y avoir de l'application de solvant.

Nous avons choisi un produit naturel (propolis) dont nous avons préparé les extraits de ce produit par utilisation de l'éthanol (90%). Nous avons noté qu'il y avait une différence significative entre les témoins seules et ceux de l'éthanol, ce qui peut être expliqué par l'activité biologique (antifongique et antibactérien) de l'éthanol. Certain chercheurs ont utilisé la même méthode (**Ouattara et al, 2018**) et qui ont trouvé que l'extrait éthanolique a réduit à des degrés variables le développement des champignons testés. Autres chercheurs ont utilisé de différentes méthodes par rapport la notre. La méthode d'extraction par l'éther, l'extrait aqueux (**Bouharb et al, 2014**) a donné une activité antibactérienne plus large par rapport à l'extrait éthanolique. D'autres chercheurs (**Zihiri et al, 2003, Traoré et al, 2012**) ont confirmé que l'efficacité de l'extrait éthanolique est 100 fois plus active par rapport à l'extrait aqueux chez les antifongiques et antibactérien.

1.6. La relation entre l'efficacité et les doses

Le test non paramétrique de wilcoxon a été utilisé pour comparer les moyenne, nous avons constaté que la différence est hautement significative entre les différentes doses pour le Diamètres 1 ($KHi^2 = 39.67$; $DDL = 11$; $P = 0.0003$). Les mêmes résultats sont trouvés par l'utilisation d'un modèle linéaire généralisé (GLM), la différence est très hautement significative entre les doses appliquées pour le Diamètre 1 (valeur de $F = 231,88$; $DDL = 11$; $P < 0.0001$).

Le groupement des groupes homogène, par le test de Duncan Waller, donne 8 groupes distinctifs et 6 groupes intermédiaires. Le groupe A contient seulement le témoin. Le groupe B est représenté par le témoin appliqué en présence de l'éthanol, le groupe C contient la Dose 10 ml Tiaret. Le groupe G est représenté par la Dose 80 ml de Tiaret. Enfin le groupe H qui

contient la dose 120 ml de Tiaret Pour les groupes intermédiaire, nous avons le groupe DC, qui est représenté par la dose de l'éthanol. Pour le groupe DE on trouve les dose 10 et 15 ml de Tissemsilt. Le groupe intermédiaire DEF contient la dose 40ml de Tiaret. Pour le groupe EF, on trouve la Dose 20 ml de Tissemsilt. Le groupe DEF est représenté par la dose 25 ml de Tissemsilt. Le groupe GF contient la dose 30 ml de Tissemsilt

Tableau 10: le groupement des groupes homogène pour diamètres 2

<i>Duncan groupement</i>			<i>Moyenne</i>	<i>Nb</i>	<i>Traitement</i>
	A		8.3667	3	Témoin
	A				
	A		8.3667	3	Témoin
	B		4.2667	3	l'éthanol
	B				
	B		4.2667	3	l'éthanol
	C		2.6	3	10 ml Tiaret
	C				
D	C		2.3	3	20 ml Tiaret
D					
D	C	E	2.2	3	10ml Tissemsilt
D		E			
D	F	E	2	3	15 ml Tissemsilt
	F	E			
	F	E	1.8	3	20 ml Tissemsilt
	F				
G	F		1.7	3	25ml Tissemsilt
G					
G	F		1.6	3	40ml Tiaret
G					
G	H		1.3	3	30 ml Tissemsilt
	H		0.9	3	80ml Tiaret
	I		0.3	3	120 ml Tiaret

Par l'utilisation de test non paramétrique de wilcoxon, utilisé pour comparer les moyenne, nous avons constaté que la différence est hautement significative entre les différentes doses pour le Diamètres 2 ($KHi^2=39.52$; $DDL =11$; $P=0.0002$). Les mêmes résultats sont trouvés par l'utilisation d'un modèle linéaire généralisé (GLM), la différence est très hautement significative entre les doses appliquées pour le Diamètre 2 (valeur $F = 322,47$; $DDL =11$; $P<0.001$).

Le groupement des groupes homogène, par l'utilisation de test de Duncan Waller donne 9 groupes distinctifs et 6 groupes intermédiaires. Le groupe A contient seulement le témoin. Le groupe B est représenté par le témoin appliqué en présence de l'éthanol. Le groupe C contient la Dose 10 ml de Tiaret. Le groupe G est représenté par la Dose 80 ml de Tiaret. Le groupe H qui contient la dose 120 ml de Tiaret. Finalement, le groupe I qui contient la dose 120 ml de Tiaret. Pour les groupes intermédiaires, nous avons le groupe DC, qui est représenté par le témoin appliqué en présence de l'éthanol. Pour le groupe DCE on trouve la dose 10 ml de Tissemsilt. Le groupe intermédiaire DFE contient la dose 15 ml de Tissemsilt. Pour le groupe FE, on trouve la Dose 20 ml de Tissemsilt. Le groupe GF est représenté par la dose 25 ml de Tissemsilt et la dose 40ml de Tiaret. Le groupe GH contient la dose 30 ml de Tissemsilt

Certains chercheurs (**Lee, 2007**) ont signalé que le concept de dose est important en médecine clinique. Lors du traitement pharmacologique de nombreuses conditions, les médecins commencent en général par prescrire une dose qu'ils estiment être la dose efficace minimale. Si le patient ne réagit pas, cette dose initiale pourra être amenée par titrations progressive jusqu'à la dose maximale au-delà de laquelle les effets secondaires du médicament deviennent inacceptables pour le traitement

1.7. La relation entre l'efficacité et origine géographique de propolis

Nous avons observé que l'efficacité de propolis de Tissemsilt avec une dose de 20 ml /litre est quasiment identique à celle observée pour une dose de 40ml / litre de propolis de Tiaret (tableau 8) .Ainsi, la dose de 30ml/l de propolis Tissemsilt correspond à une dose de 80 ml / l de celle de Tiaret (tableau 8). Nous avons constaté une différence significative (valeur $F =5.65$; $DDL =1$; $P=0.0251$) entre l'efficacité observé chez les propolis appartenant aux deux régions d'étude, Tissemsilt et Tiaret

Globalement les résultats obtenus nous font apparaître une efficacité qui se diffère entre les différents extraits de propolis appartenant à différentes régions (Tissemsilt, Tiaret). Ce qui peut être expliqué par l'origine botanique de la propolis utilisées. Les chercheurs (**Bankova, 200** ; **Chen et al, 2008**) ont démontré que l'activité biologique de la propolis est influencée par plusieurs facteurs ; à savoir l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'espèce végétal elle-même, le stade de la croissance, la période, la méthode de la récolte, la méthode de séchage de partie utilisée de plant, la saveur, l'odeur et la couleur.

Dans le même ordre d'idée, (**Laerte et al, 2019**) ont prouvé que les effets et la force de ces activités biologiques dépendent du profil chimique et de la composition de chaque type de propolis. D'autres chercheurs ont signalé que l'efficacité se diffère selon la race d'abeille (**Ferhoum, 2010**). D'autres notent que l'efficacité se diffère selon la période et la méthode de récolte (**Guermah et al, 2021**). Généralement, la récolte se fait de préférence par grattage que par la méthode de grille (**Krell, 1996**). Ceci confirme notre hypothèse, car la propolis de Tissemsilt a été récoltée par le grattage et celle de Tiaret par la méthode de grille, et est donc possible que la méthode de récolte de la propolis qui a fait la différence dans son efficacité.

1.8. L'efficacité de propolis par rapport l'éthanol

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'inhibition de la croissance par l'extrait de propolis est plus importante par rapport à l'éthanol indiquant que la propolis est plus efficace par rapport l'éthanol. Cependant, l'éthanol montre également une activité antifongique importante. Ce qui a été démontré par certains chercheurs (**Habouche, 2018**), dont l'efficacité de l'éthanol contre *ascosphaera apis* était beaucoup moins importante que celle des extraits végétaux. Egalement (**Elisabeth, 2020**) a confirmé que l'efficacité de propolis est considérable contre les agents pathogènes. Les études disponibles suggèrent que la thérapie nutritionnelle naturelle joue un rôle important dans plusieurs maladies humaine, et l'utilisation de la propolis par les abeilles domestiques peut être considérée comme un excellent exemple de ressource naturelle en. Au cours de la dernière décennie, une série d'étude validées in vitro et in vivo ont démontré que la propolis a un large spectre d'actions thérapeutiques en raison de ses propriétés antimicrobiennes, antivirales, antiparasitaires, anti tumoral, immun modulatrice, anti-inflammatoire. Par exemple, la propolis et ses composants ont potentiel de servir de thérapie comportement aire pour le cancer. Malgré le large effet de la propolis dans divers systèmes biologiques, certains chercheurs ont confirmé qu'il existe de

nombreux extraits de plantes efficaces contre les champignons (**Chaimanee et al, 2017**). Selon une expérience au laboratoire, trente-deux extraits de plantes à savoir romarin *Salvia rosmarinus*, camphre *Cinnamomum camphora*, citronnelle *Cymbopogon nardus*... est, ont été sélectionnés pour cette étude sur la base de leur connaissance préalable des activités antimicrobiennes. Pour inhiber la croissance mycélienne d’*A. Apis* (**Krutmuang et al, 2020**). Selon d'autres chercheurs (**Benkherara et al, 2013**), il ressort que les huiles essentielles possèdent un fort pouvoir antibactérien sur les bactéries multi résistantes testées. Toutefois, l’inhibition de la croissance varie en fonction de l’espèce bactérienne et de la concentration de l’extrait volatil obtenu. Ce pouvoir antibactérien est dû à la richesse des huiles essentielles en substances inhibitrices. Il s’agit probablement des phénols qui sont doués d’une forte activité antibactérienne.

1.9. Différence entre l’extrait de propolis et témoin

Pour les deux diamètres, le témoin est représenté par un groupe distinctif, ce qui signifie l'existence d'une efficacité des doses appliquées de la propolis par rapport le témoin. Les mêmes résultats sont déclarés par (**Bagré et al, 2011**).

1.10. Taux d’inhibition

Le taux d’inhibition de la croissance mycélienne est déterminé après 5 jours d’incubation à 28°C, en utilisant la formule d’Abbott (**Motiejunaite et Peiculyie, 2004**). Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 33.

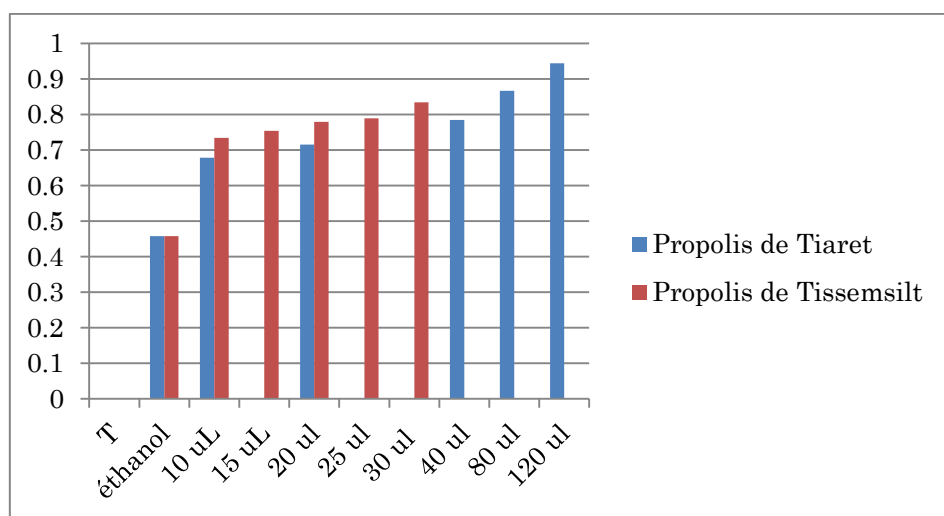


Figure 33 : taux d’inhibition de la région Tiaret et Tissemsilt

Après le calcul de taux d'inhibitions de chaque propolis, nous avons dénoté une différence très hautement significative entre les différentes doses pour les deux origines géographiques de propolis. En comparant les résultats des différentes doses appliquées par rapport à celui du témoin (45.73%). Pour la propolis issue de la région de Tissemsilt, à partir de la dose 30 ml nous avons remarqué une inhibition totale de la croissance. Les résultats de cette étude montrent que l'extrait qui présente l'efficacité la plus élevée (83.33%) est celui de Tissemsilt. Pour cette région, les taux d'inhibition se différencient d'un extrait à un autre. L'extrait de la dose 25 ml (78.90%), suivi par l'extrait de la dose 20 ml (77.90%), ensuite l'extrait de la dose 15 ml (75.40%). L'extrait de dose 10 ml possède la plus faible efficacité (73.44%). La propolis de cette région a un effet remarquable pour l'ensemble des doses étudiées. Pour la région de Tiaret, à partir de la dose 120ml nous avons remarqué une inhibition totale de la croissance. Les résultats obtenus montrent que le meilleur extrait qui représente l'efficacité la plus élevée (94.37%), suivi par l'extrait de la dose 80 ml (86.62%), puis l'extrait de la dose 40ml (78.50%), ensuite l'extrait de la dose 20 ml (71.51%). L'extrait de dose 10 ml possède la plus faible efficacité (67.82%). La propolis de cette région a un effet remarquable pour l'ensemble des doses étudiées. Les résultats du tableau 9 indiquent une différence dans l'effet de propolis en comparant celui de Tissemsilt avec celui de Tiaret.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Cette approche choisie nous a permis d'étudier l'impact de la propolis issues de différentes régions sur la principale maladie fongique d'abeille en Algérie. Elle nous a permis d'apercevoir des généralités sur *l'ascosphaera apis*. Il existe plusieurs méthodes de diagnostic des infections fongiques. Le diagnostic d'infection fongique est la méthode de certitude de diagnostic car il permet l'isolement et l'identification directe de l'agent (champignon) responsable. Il se déroule en plusieurs étapes importantes, qui se sont basé sur l'examen microscopique et macroscopique.

Il est primordial de rechercher d'autres facteurs qui menacent réellement la survie de l'abeille locale. Par ailleurs, les traitements chimiques ne sont pas recommandés en Algérie. Cela est bénéfique pour les apiculteurs et l'abeille elle-même. En produisant du miel de meilleure qualité sans résidu des produits chimiques. Dans le même ordre d'idées, il est fondamental d'utiliser des bonnes pratiques apicoles et utilisé les produit naturel pour lutter contre les maladies.

Dans le domaine de la recherche biologique, beaucoup d'efforts ont été réalisés ces dernières années pour la recherche de nouveaux traitements à base de plantes, l'étude de leurs éléments d'efficacité et la compréhension de leur mode d'action . Et notre L'étude que nous avons effectuée rentre dans le contexte de valorisation de l'un des produits de la ruche (propolis).

Notre étude de l'activité antifongique des échantillons de la propolis ont montré que l'effet des extraits de la propolis dépend de l'origine géographique et de la méthode d'extraction utilisée, dont nous avons démontré que les extraits de propolis de Tissemsilt est considérés comme les plus puissants par rapport aux extraits de propolis de Tiaret. Aussi, nous avons confirmé que les extraits éthanoliques ont une activité antifongique plus importante.

L'étude de l'activité antifongique des extraits des propolis étudiées a prouvé qu'ils sont efficaces et inhibiteurs de la croissance de champignon *A. apis*. Ce qui nous incite à proposer l'extrait de propolis comme un agent inhibiteur ou médiateur avec des médicaments antifongiques. Pour un projet de la fabrication d'un traitement efficace à base de propolis contre *l'ascosphaera apis*, une étude qui porte sur le test de différentes concentrations est primordiale afin de déterminer avec précision les doses létales et les doses d'inhibitions.

Références bibliographiques

-A-

- Abersi, D., Henna, K., & Rahem, A. (2016).** *Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de certains miels locaux et importés* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Abida, I., Sadoudi, I., & Brihoum, H. E. (2021).** *Recherche sur l'effet chimiopréventif et antinéoplasique de la propolis et ses constituants contre les cancers digestifs* (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- Abir, C., Nor-El-Houda, A. T. A. M. N. A., & Djamilia, C. (2020).** Etude de l'effet de la consommation à long terme de la propolis sur le système immunitaire.
- Adam, G. (2012).** Pathologie apicole. *Ecole d'apiculture des ruchers du sud-Luxembourg, 24p.*
- Adjlane, N. (2012).** *Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale Apis mellifera intermissa dans la région médio-septentrionale de l'Algérie* (Doctoral dissertation).
- Ait Hammou M, Hadjadj Aoul S, Miara M. D. Et Zerrouki D.** Aspects Taxonomiques Des Lichens Du Pin D'alep (Pinus Halepensis) Et Du Cypres (Cupressus Sempervirens) De La Foret De Guezoul (Tiaret), Revue D'écologie Et Environnement, Décembre 2011, N °07, P. 15_26
- Alberti, G., & Hänel, H. (1986).** Fine structure of the genital system in the bee parasite, *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation. *Experimental & applied acarology*, 2(1), 63-104.
- Albo, G. N., Córdoba, S. B., & Reynaldi, F. J. (2017).** Chalkbrood: pathogenesis and the interaction with honeybee defenses. *Int. J. Environ. Agric. Res*, 3, 71-80.
- Alleaume, C. (2012).** *L'abeille domestique (Apis mellifera), exemple pour l'étude de l'attractivité des plantes cultivées sur les insectes pollinisateurs* (Doctoral dissertation).
- Amigou, M. (2016).** *Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits alimentaires apicoles (miel, pollen, gelée royale et propolis)* (Doctoral dissertation, éditeur non identifié).
- Anderson, K. E., Sheehan, T. H., Eckholm, B. J., Mott, B. M., & DeGrandi-Hoffman, G. (2011).** An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honey bee and hive (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux*, 58(4), 431-444.
- Andi, (2013)** Agence Nationale de Développement de l'Investissement.
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., ... & Dash, C. K. (2019).** Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695-1703.

Références bibliographiques

- Anupama, D., Bhat, K. K., & Sapna, V. K. (2003).** Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food research international*, 36(2), 183-191.
- Aronstein, K. A., & Murray, K. D. (2010).** Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S20-S29.
- Aymé, A. (2014).** *Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière* (Doctoral dissertation).
- B-**
- Baggio, A., Gallina, A., Dainese, N., Manzinello, C., Mutinelli, F., Serra, G., ... & Sangiorgi, E. (2005).** Gamma radiation: a sanitating treatment of AFB-contaminated beekeeping equipment. *Apiacta*, 40, 22-27.
- Bagré, I., Bahi, C., Ouattara, K., Guede, N. Z., Djaman, A. J., Coulibaly, A., & N'guessan, J. D. (2011).** Étude botanique et exploration de l'activité antifongique de *Morinda morindoides* (Baker) Milne-Redh. sur la croissance in vitro de *Cryptococcus neoformans*. *Phytothérapie*, 9(2), 136-141.
- Bakiri, E. (2018).** Abeilles sauvages et abeilles domestique: Impact sur la biodiversité et la productivité. Université des Frères Mentouri Constantine. p, 14.
- Bakiri, E. (2018).** Abeilles sauvages et abeilles domestique: Impact sur la biodiversité et la productivité. *Université des Frères Mentouri Constantine*. p, 14.
- Ball, B. V. (1997).** Secondary infections and diseases associated with *Varroa jacobsoni*. *The varroosis in the Mediterranean region*, 21, 49-58.
- Bankova, V. (2005).** Recent trends and important developments in propolis research. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2(1), 29-32.
- Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000).** Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15.
- Barrouhou, O., & Abdessamed, A. (2020).** Essais préliminaire sur l'élevage des reines.
- Benkherara, S., Bordjiba, O., & Djahra, A. B. (2013).** Action des Principes Actifs Naturels d'une Plante Aromatique Algérienne Vis-à-Vis des Entérobactéries Pathogènes. *Algerian Journal of Arid Environment*, 258(1625), 1-9.
- Biri M., (2011).** Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture .7ème édition. Paris: DE VECCHI: Jacques Gout, 39-40p. ISBN 9782732895765.
- Biri, M. (2010).** *Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture*. De Vecchi.
- Boecking, O., & Genersch, E. (2008).** Varroosis—the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 3(2), 221-228.

Références bibliographiques

- Boisard, S., Le Ray, A. M., Kempf, M., Cassisa, V., Flurin, C., & Richomme, P. (2016).** Propriétés antibactériennes d'extraits de propolis contre des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles ou résistantes à la méthicilline. In *Journées BacTouBac, l'innovation face au défi bactérien*.
- Boucher, C., Desjardins, F., Giovenazzo, P., Marceau, J., Pettigrew, A., Tremblay, H., & Tremblay, N. (2011).** Gestion optimale du rucher. *CRAAQ, Ed, 77*.
- Boudegga, H., Boughalleb, N., Barbouche, N., Ben Hamouda, M. H., & Mahjoub, M. E. (2010).** In vitro inhibitory actions of some essential oils on *Ascosphaera apis*, a fungus responsible for honey bee chalkbrood. *Journal of apicultural research*, 49(3), 236-242.
- Bouhala, A., & Chefrour, A. R. (2012).** *Inventaire des plantes mellifères dans la région de Jijel (cas d'El Kennar)* (Doctoral dissertation).
- Bouharb, H., El Badaoui, K., Zair, T., Chakir, S., & Alaoui, T. (2014).** Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences*, 78, 6685-6693.
- Bradbear, N. (2010).** *Rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles*. FAO.
- Broschneider, R., & Crailsheim, K. (2010).** Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41(3), 278-294.
- Bruneau, E., Barbancon, J. M., Bonnafé, P., Domerego, R., Fert, G., Le Conte, Y., ... & Vaissière, B. (2004).** Le traité Rustica de l'apiculture. *Paris: Editions Rustica/Fler*.
- C-
- Calderon, R. A., Ortiz, R. A., Arce, H. G., Van Veen, J. W., & Quan, J. (2000).** Effectiveness of formic acid on varroa mortality in capped brood cells of Africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 39(3-4), 177-179.
- Calderone, N. W., Shimanuki, H., & Allen-Wardell, G. (1994).** An in vitro evaluation of botanical compounds for the control of the honeybee pathogens *Bacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the secondary invader *B. alvei*. *Journal of Essential Oil Research*, 6(3), 279-287.
- Calis, J. N. M., Boot, W. J., & Beetsma, J. (1999).** Model evaluation of methods for *Varroa jacoboni* mite control based on trapping in honey bee brood [trap-combs, biotechnical control]. *Apidologie (France)*.
- Cannavo, P., Mohammed, B., Valé, M., Bresch, S., Guénon, R., & Recous, S. (2019, November).** Quels paramètres influencent la minéralisation de l'azote dans les substrats de culture organiques hors-sol? In *14èmes Rencontres de la Fertilisation Raisonnée et de l'Analyse*.
- Cardinault, N., Cayeux, M. O., & Percie du Sert, P. (2012).** La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*, 10(5), 298-304.

Références bibliographiques

- Cardinault, N., Cayeux, M. O., & Percie du Sert, P. (2012).** La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*, 10(5), 298-304.
- Caron, D., Burdick, E., Ostiguy, N., & Frazier, M. (2005).** Mid-atlantic apiculture research and extension consortium survey preliminaries. *Department of Entomology*, 501.
- Castaldo, S., & Capasso, F. (2002).** Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
- Chahbar, M. (2017).** Principales maladies et ennemis de l'abeille domestique *Apis mellifera* L., 1758 en Algérie (Doctoral dissertation).
- Chahbar, N. (2013).** Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique (Doctoral dissertation).
- Chaimanee, V., Thongtue, U., Sornmai, N., Songsri, S., & Pettis, J. S. (2017).** Antimicrobial activity of plant extracts against the honeybee pathogens, *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis* and their topical toxicity to *Apis mellifera* adults. *Journal of applied microbiology*, 123(5), 1160-1167.
- Charrière, J. D., Hurst, J., Imdorf, A., & Fluri, P. (2006).** Intoxications d'abeilles. In *ALP Forum, Berne*.
- Charrière, J. D., Imdorf, A., Bachofen, B., & Tschan, A. (2003).** The removal of capped drone brood: an effective means of reducing the infestation of varroa in honey bee colonies. *Bee World*, 84(3), 117-124.
- Chauzat, 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.
- Chen, J., Long, Y., Han, M., Wang, T., Chen, Q., & Wang, R. (2008).** Water-soluble derivative of propolis mitigates scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(3), 441-446.
- Clément, H. (2015).** *Le traité Rustica de l'apiculture*. Rustica.
- D-**
- Davis, G., & Ward, W. (2003).** Control of chalkbrood disease with natural products. RIRDC.
- Debab, M., Toumi-Benali, F., & Dif, M. M. (2017).** Antioxidant activity of propolis of West Algeria. *Phytothérapie*, 15(4), 230-234.
- Delfinado-Baker, M., & Baker, E. W. (1982).** Notes on honey bee mites of the genus *Acarapis* Hirst (Acari: Tarsonemidae). *International Journal of Acarology*, 8(4), 211-226.
- Dellacasa, A. D., Bailac, P. N., Ponzi, M. I., Ruffinengo, S. R., & Eguaras, M. J. (2003).** In vitro activity of essential oils from San Luis-Argentina against *Ascosphaera apis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 282-285.

Références bibliographiques

Donadieu, Y. (2008). La Propolis Editions Dangles. Paris, 90p E.

Droz, B., Dietemann, V., Gauthier, L., & Charrière, J. D. (2015). L'encagement des reines: une méthode pour traiter contre varroa en été. *Revue Suisse d'Apiculture*, 20-28.

-E-

El Housseini, N. (2013). *Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire* (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ DE NANTES).

El Shafai, H. A. F. (2012). In vitro control of *Ascospaera apis* fungus by some plant extracts.

Elisabeth, N. (2020). L'intérêt de la propolis dans la prévention bucco-dentaire: propriétés bactéricides et cariostatiques d'un produit naturel. *Revue systématique de la littérature*.

Ellis, J. D., & Nalen, C. M. Z. (2010). Varroa mite, varroa destructor anderson and truemana (arachnida: Acari: Varroidae). *EDIS*, 2010(4).

-F -

Ferhoum, F. (2010). *Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis)* (Doctoral dissertation, Boumerdès, Université M'hamed Bougara. Faculté des Sciences de L'ingénieur).

Flores, J. M., Ruiz, J. A., Ruz, J. M., Puerta, F., Bustos, M., Padilla, F., & Campano, F. (1996). Effect of temperature and humidity of sealed brood on chalkbrood development under controlled conditions. *Apidologie*, 27(4), 185-192.

Flores, J. M., Spivak, M., & Gutiérrez, I. (2005). Spores of *Ascospaera apis* contained in wax foundation can infect honeybee brood. *Veterinary microbiology*, 108(1-2), 141-144.

Fluri, P. (1994). Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal suisse d'Apiculture*, 91, 19-27.

Fluri, P., Herrmann, M., Imdorf, A., Bühlmann, G., & Charrière, J. D. (1998). Santé et maladies des abeilles Connaissances de base. *Communication du Centre Suisse de Recherche Apicole*, (33).

Frick, R., & Fluri, P. (2001). Bienenverluste beim Mähen mit Rotationsmähdwerken. *Agrarforschung*, 8, 196-201.

Fries, I. (1993). Nosema apis a parasite in the honey bee colony. *Bee World*, 74(1), 5-19.

Fries, I., & Camazine, S. (2001). Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. *Apidologie*, 32(3), 199-214.

-G-

Références bibliographiques

- Gharbi, M. (2011).** *Les produits de la ruche (origines-fonctions naturelles-composition-propriétés thérapeutiques)* (Doctoral dissertation, Thèse du doctorat. universite claud-bernardlyon I).
- Gilliam, M., Lorenz, B. J., Wenner, A. M., & Thorp, R. W. (1997).** Occurrence and distribution of *Ascosphaera apis* in North America: chalkbrood in feral honey bee colonies that had been in isolation on Santa Cruz Island, California for over 110 years. *Apidologie*, 28(6), 329-338.
- Gliński, Z., & Buczek, K. (2003).** Response of the Apoidea to fungal infections. *Apiacta*, 38, 183-189.
- Gochnauer, T. A., Boch, R., & Margetts, V. J. (1979).** Inhibition of *Ascosphaera apis* by citral and geraniol. *Journal of Invertebrate Pathology*, 34(1), 57-61.
- Gregory, S. R., Piccolo, N., Piccolo, M. T., Piccolo, M. S., & Hegggers, J. P. (2002).** Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. *The Journal of Alternative & Complementary Medicine*, 8(1), 77-83.
- Guermah, H., Hadjem, S., & Zemih, H. (2021).** Effet de la méthode de récolte sur la production de propolis par l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* en Algérie.
- Guerriat, H. (1996).** *Etre performant en apiculture*. H. Guerriat.
- H-
- Habbi-Cherifi, A., Adjlane, N., & Medjdoub-Bensaad, F. (2019).** La Varroase De L'abeille Mellifere: Biologie, Cycle De Developpement, Pathogenie Et Moyens De Lutte. *Algerian Journal Of Arid Environment "Ajae"*, 9(2), 16-16.
- Habouche, M. (2018).** *Étude de l'activité antifongique de quelques extraits végétaux* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
- Hadid, M. (2002).** Architectural styles survey in Palestinian territories. *Energy Codes for Building (www. molg.pna. ps)*.
- Haubruge, E., Nguyen, B. K., Widart, J., Thomé, J. P., Fickers, P., & De Pauw, E. (2006).** Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae): faits et causes probables. *Notes fauniques de Gembloux*, 59(1), 3-21.
- Haubruge, E., Nguyen, B. K., Widart, J., Thomé, J. P., Fickers, P., & De Pauw, E. (2006).** Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae): faits et causes probables. *Notes fauniques de Gembloux*, 59(1), 3-21.
- Hausen, B. M., Wollenweber, E., Senff, H., & Post, B. J. C. D. (1987).** Propolis allergy: (I). Origin, properties, usage and literature review. *Contact dermatitis*, 17(3), 163-170.
- Heath, L. A. F. (1982).** Development of chalk brood in a honeybee colony: a review. *Bee World*, 63(3), 119-130.

Références bibliographiques

Hennebelle S, (2010). L'abeille In Doc apiculture.

Hinojosa, I., & Rasnitsyn, A. P. (2009). A honey bee from the Miocene of Nevada and the biogeography of Apis (Hymenoptera: Apidae; Apini). *Proc Calif Acad Sci*.

Hornitzky, M. (2001). PMB 8 CAMDEN 2570 Phone: 02 4640 6311 Fax: 02 4640 6400 Email: michael.hornitzky@agric.nsw.gov.au.

-J-

Jacob, P. X. (2004). Courants et essais novateurs dans l'Islam Turc. *Die Welt des Islams*, 44(1), 27-84.

Janine, P. A. I. N., Roger, B., & Theurkauff, J. (1974). Mise en évidence d'un cycle saisonnier de la teneur en acides céto-9 et hydroxy-9 décène-2 oïque des têtes de reines vierges d'Abeille. *Apidologie*, 5(4), 319-355.

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.

Jones, R. (Ed.). (2005). *Bibliography of commonwealth apiculture*. Commonwealth Secretariat.

-K-

Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 274(1608), 303-313.

Kotthoff, U., Wappler, T., & Engel, M. S. (2011). Miocene honey bees from the Randeck Maar of southwestern Germany (Hymenoptera, Apidae). *ZooKeys*, (96), 11.

Kotwal, S. A. N. D. E. E. P., & Abrol, D. P. (2013). Evaluation of essential oils and cultural practices for the management of Varroa destructor. *The bioscan*, 8(1), 15-20.

Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping (No. 124)*. Food & Agriculture Org.

Krupke, C. H., Hunt, G. J., Eitzer, B. D., Andino, G., & Given, K. (2012). Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS one*, 7(1), e29268.

Krutmuang, P., Rajula, J., Pittarate, S., Chatima, C., Thungrabeab, M., Mekchay, S., & Senthil-Nathan, S. (2022). The inhibitory action of plant extracts on the mycelial growth of *Ascosphaera apis*, the causative agent of chalkbrood disease in Honey bee. *Toxicology Reports*, 9, 713-719.

-L-

Lavie, P. (1960). Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*Apis mellifica* L.). *Les Annales de l'Abeille*, 3(2), 103-183.

Le Conte, Y. (2002). La vie sociale de la colonie.

Références bibliographiques

- Le Conte, Y. (2004).** Mieux connaître l'abeille. La vie sociale de la colonie. *Bruneau E., Barbançon J.-M., Bonnaffé P., Clément H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y., Ratia G., Reeb C., Vaissière B. Le traité Rustica de l'apiculture. Rustica éditions, Paris, 12-83.*
- Lee, I. M. (2007).** Relation dose-reponse entre l'activité et la condition physique: Meme un peu, c'est bien, mais plus c'est mieux. *JAMA-français, 297(19), 2137.*
- Lehébel-Péron, A. (2014).** *L'abeille noire et la ruche-tronc: approche pluridisciplinaire de l'apiculture traditionnelle cévenole: histoire, diversité et enjeux conservatoires* (Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc).
- Letonturier, P. (2007).** *Immunologie générale.* Elsevier Masson.
- Liang, Q., Chen, D., & Wang, J. (2000).** Effects of temperature, relative humidity and pH on germination of chalkbrood fungus, *Ascosphaera apis* spore. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology, 11(6), 869-872.*
- Liang, Q., Chen, D., & Wang, J. (2000).** Effects of temperature, relative humidity and pH on germination of chalkbrood fungus, *Ascosphaera apis* spore. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology, 11(6), 869-872.*
- Liu, T. P. (1991).** Ultrastructural changes in the spore and mycelia of *Ascosphaera apis* after treatment with benomyl (Benlate 50 W). *Mycopathologia, 116(1), 23-28.*
- M-**
- Maisonnasse, A., Hernandez, J., Le Quintec, C., Cousin, M., Beri, C., & Kretzschmar, A. (2016).** Évaluation de la structure des colonies d'abeilles, création et utilisation de la méthode ColEval (Colony Evaluation). *Innovations Agronomiques, 53, 27-37.*
- Meimaridou, E., Lobos, E., & Hothersall, J. S. (2006).** Renal oxidative vulnerability due to changes in mitochondrial-glutathione and energy homeostasis in a rat model of calcium oxalate urolithiasis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology, 291(4), F731-F740.*
- Meunier, O., Hernandez, C., Piroird, M., Heilig, R., Steinbach, D., & Freyd, A. (2005, September).** Prélèvements bactériologiques des surfaces: importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 63, No. 5, pp. 481-486).
- Miara, M. D., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013).** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie, 11(4), 206-218.*
- Michez, D. (2007).** La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal. 2. *Brèves.*

Références bibliographiques

Mondet, F., Maisonnasse, A., Kretzschmar, A., Alaux, C., Vallon, J., Basso, B., ... & Le Conte, Y. (2016). Varroa: Son impact, les méthodes d'évaluation de l'infestation et les moyens de lutte. *Innovations Agronomiques*, 53, 63-80.

Moudir, N. (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne (Doctoral dissertation, Université de M'Sila-Mohamed Boudiaf).

-N-

Ndola, B. P., Malumba, P., Wathelet, B., Haubruge, E., Francis, F., & Nguyen, B. K. (2017). Assessment of nutritional resources quality from honeybees (*Apis mellifera adansonii*, L. 1758: Hymenoptera, Apidae) in three beekeeping sites of the Democratic Republic of Congo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(2), 541-555.

Ouattara, L., Ouoba, P., Bonzi, S., & Somda, I. Évaluation de l'activité antifongique et de la phytotoxicité de *Isoperlinia doka craib* & staff.

-P-

Page Jr, R. E., & Peng, C. Y. S. (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental gerontology*, 36(4-6), 695-711.

Palacio, M. A., Peña, N., Clemente, G., Ruffinengo, S., & Escande, A. R. (2007). Viability and pathogenicity of "*Ascosphaera apis*" preserved in integral rice cultures. *Spanish journal of agricultural research*, (4), 481-486.

Pernal, S. F., & Clay, H. (2015). Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique. *Beaverlodge (Alberta), Association canadienne des professionnels de l'apiculture*.

Philippe, J. M., & Philippe, J. M. (2007). *Le guide de l'apiculteur*. Edisud.

Pornpukdeewattana, S., Kerdpiboon, S., Jindaprasert, A., Pandee, P., Teerarak, M., & Krusong, W. (2017). Upland rice vinegar vapor inhibits spore germination, hyphal growth and aflatoxin formation in *Aspergillus flavus* on maize grains. *Food Control*, 71, 88-93.

Prisco, G. D., Zhang, X., Pennacchio, F., Caprio, E., Li, J., Evans, J. D., ... & Chen, Y. P. (2011). Dynamics of persistent and acute deformed wing virus infections in honey bees, *Apis mellifera*. *Viruses*, 3(12), 2425-2441.

Prost, P. J., & Le Conte, Y. (2005). *Apiculture: connaître l'abeille, conduire le rucher*. Lavoisier, Paris, 382.

-Q-

-R-

Rademacher, E., & Harz, M. (2006). Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies—a review. *Apidologie*, 37(1), 98-120.

Références bibliographiques

- Ranfaing, J. (2017).** *Etudes des activités anti-adhérentielles et anti-bactériennes de la canneberge (Vaccinium macrocarpon) et de la propolis* (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
- Ravazzi G. (2003).** Abeille et apiculture. Ed de Vecchi S.A. Paris, 109p.
- Requier, F. (2013).** *Dynamique spatio-temporelle des ressources florales et écologie de l'abeille domestique en paysage agricole intensif* (Doctoral dissertation, Université de Poitiers).
- Rodríguez, M., Gerding, M., & France, A. (2009).** Selección de Hongos Entomopatógenos para el Control de Varroa destructor (Acari: Varroidae). *Chilean journal of agricultural research*, 69(4), 534-540.
- Roger, B., & Pain, J. (1966).** L'influence de la reine d'abeille (*Apis mellifica* L.) sur le taux de mortalité des ouvrières accompagnatrices. *Les Annales de l'Abeille*, 9(1), 5-36.
- Rossant, A. (2011).** *Le miel: un composé complexe aux propriétés surprenantes* (Doctoral dissertation).
- Ruffinengo, S. R., Maggi, M., Fuselli, S., Floris, I., Clemente, G., Firpo, N. H., ... & Ponzi, M. I. (2006).** Laboratory evaluation of *Heterothalamus alienus* essential oil against different pests of *Apis mellifera*. *Journal of Essential Oil Research*, 18(6), 704-707.
- S-
- Sanford, M. T. (1987).** *Diseases and pests of the honey bee*. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, EDIS.
- Santos, L. M., Fonseca, M. S., Sokolonski, A. R., Deegan, K. R., Araújo, R. P., Umsza-Guez, M. A., ... & Machado, B. A. (2020).** Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(4), 1369-1382.
- Sattler, J. A. G., de Melo, I. L. P., Granato, D., Araújo, E., de Freitas, A. D. S., Barth, O. M., ... & de Almeida-Muradian, L. B. (2015).** Impact of origin on bioactive compounds and nutritional composition of bee pollen from southern Brazil: A screening study. *Food Research International*, 77, 82-91.
- Sawicka, D., Car, H., & Borawska, M. H. (2012).** Nikli nski, J. The anticancer activity of propolis. *Folia Histochem. Cytobiol*, 50(1), 25.
- Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010).** Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), 295-311.
- Snodgrass, R. E. (2018).** Anatomy of the honey bee. In *Anatomy of the honey bee*. Cornell University Press.
- Spiltoir, C. F., & Olive, L. S. (1955).** A reclassification of the genus *Pericystis* Betts. *Mycologia*, 47(2), 238-244.
- Spurgin, A. (2010).** *Guide de l'abeille*. Paris, Delachaux et Niestlé.

Références bibliographiques

Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Polyphenols isolated from propolis augment TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.

-T-

Thorstensen, K. (1976). Chalkbrood, a fungal disease of honeybees. *Birokteren*, 92, 14-17.

Thurber, P. F. (1979). CHALK BROOD. *American Bee Journal*, 119(8), 605.

Tosi, E. A., Ciappini, M. C., Cazzoli, A. F., & Tapiz, L. M. Apiacta 41 (2006). Page 110-120 110 110
Physico Chemical Characteristics Of Propolis Collected In Santa Fe (Argentine).

Touati, H. T., & Garnelkabeche, A. (2021). *Propriétés antibactériennes du produit de la ruche contre des isolats pathogènes* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Traoré, Y., Ouattara, K., Yéo, D., Doumbia, I., & Coulibaly, A. (2012). Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'Annona senegalensis Pers.(Annonaceae). *Journal of Applied biosciences*, 58, 4234-4242.

-V-

Valcic, S; Montenigro, G; Maria, M; A Vila, G; Franzblau, S; Singh, Mp; Maiese, Wm; Timmermann, Bn. Phytochemical, morphological, and biological investigation of propolis from central chile, verlag der zeitschrift fur naturforschchung 54, 1999:406-416.

Vidal-Naquet, N. (2012). Les maladies de l'abeille domestique d'élevage, *Apis mellifera* L. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 165(4), 307-316.

Visscher, P. K. (1983). The honey bee way of death: Necrophoric behaviour in *Apis mellifera* colonies. *Animal behaviour*, 31(4), 1070-1076.

Vojvodic, S., Jensen, A. B., Markussen, B., Eilenberg, J., & Boomsma, J. J. (2011). Genetic variation in virulence among chalkbrood strains infecting honeybees. *PloS one*, 6(9), e25035.

-W-

Wahl, O., & Ulm, K. (1983). Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia*, 59(1), 106-128.

Wendling, S. (2012). *Varroa destructor (ANDERSON et TRUEMAN, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique Apis mellifera Linnaeus, 1758: Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction* (Doctoral dissertation).

Winston ML, (1993). La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Ed. Frison Roche. Paris. p276

-Y-

Références bibliographiques

Yılmaz, E., & Erden, A. K. (2019). Purification of degummed crude sunflower oil with selected metal-organic frameworks as adsorbents. *Grasas y Aceites*, 70(4), e323-e323.

-Z-

Zaghloul, O. A., Mourad, A. K., El Kady, M. B., Nemat, F. M., & Morsy, M. E. (2005). Assessment of losses in honey yield due to the chalkbrood disease, with reference to the determination of its economic injury levels in Egypt. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70(4), 703-714.

Zirihi, G. N., Kra, A. K. M., & Guédé-Guina, F. (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck O. Kuntze Asteraceae) «PYMI» sur la croissance in-vitro de *Candida albicans*. *Revue de médecine et de pharmacopées Africaines*, 17(3), 11-19.

يعتبر اسكوسفيرا ابيس احد اخطر الأمراض التي تصيب نحل العسل ، أبيض مليفيرا ، يتسبب في انخفاض كبير في انتاج الحضنة و العسل ، مما يؤدي الى خسارة اقتصادية في تربية النحل. في هذه الدراسة تم عزل الفطر الممرض من البرقات المصابة حيث تهدف الدراسة الحالية الى تقييم الفعالية المضادة للفطريات للمستخلص الايثانولي للكعبر الجزائري الخاص بولاية تيسمسيلت ، تم استخلاص العكبر باستخدام 90% من الإيثانول وتم تقييم النشاط المضاد للفطريات بالتكافؤ مع أقطار مناطق تم قياس انتشار الفطر بالسنتيمتر على وسط الاستزراع ، بعد الحضنة عند درجة حرارة 28 درجة مئوية لمدة 5 أيام لوحضت فروق ذات دلالة احصائية بين مستخلصي دنج تيسمسيلت و دنج تيارت وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها ، لوحظ ان فعالية مستخلص العكبر لولاية تيسمسيلت اكبر مقارنة بالإيثانول في حين فطر أسكوسفيرا أبيض يبدأ في الانخفاض من الجرعة الرابعة البالغة 30 مل ، لذلك فقد سجلنا 1.6 سم \pm 0.15 بطول 1.3 سم \pm 0.2 في منطقة تيسمسيلت من ناحية اخرى قطر أسكوسفيرا أبيض مع بروبوليس تيارت انخفض فقط عند الجرعة السادسة و السابعة من 80-120 مل عندما بلغ طوله 1.4 سم \pm 0.3 و عرضه 1 سم \pm 0.2 في جرعة 80 مل ، 0.7 سم \pm 0.05 في الطول و 0.3 سم \pm 0.3 في العرض 120 مل. تم الكشف عن الملاحظات حول فعالية مستخلص البروبوليس والجرعة في تثبيط النمو الفطري لأسكوسفيرا أبيض ، لوحظ أن هناك فرقاً بين فعالية دنج من أصل جغرافي بين تيسمسيلت وتيارت حيث خلصنا إلى أن دنج ولاية تيسمسيلت أكثر فعالية. قد يكون هذا الاختلاف بسبب منطقة جمع الراتنج ، او طريقة الحصاد او الموسم أو سلالة النحل.... الخ

الكلمات المفتاحية: دنج - نشاط مضاد للفطريات - أسكوسفيرا أبيض - النحل

Summary

Ascosphaera apis is one of the most dangerous diseases for honey bees, *Apis melliferae*. It causes a significant reduction in brood and honey production, resulting in economic loss in beekeeping. In the present study, the pathogenic fungus was isolated from infected larvae. And The present study aims to evaluate the antifungal activity of ethanolic extract of Algerian propolis specific to two wilaya (Tissemsilt, Tiaret), propolis was extracted using ethanol 90%, The antifungal activity was evaluated in equivalence with the diameters of inhibition zones measured in cm for diffusion on the culture medium, After incubation at 28 ° C for 5 days significant differences were observed between the two extracts propolis Tissemsilt and Tiaret, From the results obtained, it is noted that the inhibition of growth extract propolis is more important compared to ethanol. While, the diameter of the *ascosphaera apis* begins to decrease from the 4th dose of 30 ml, so we recorded 1.6cm \pm 0.15 length 1.3cm \pm 0, 2 of width in the region of Tissemsilt on the other hand the diameter of the *ascosphaera apis* with propolis of Tiaret decreased only to the 6th and 7th dose of 80-120 ml when it reaches 1.4cm \pm 0.3 of length and 1cm \pm 0.2 of width in a dose of 80 ml, 0.7cm \pm 0.05 of length and 0.3cm \pm 0.3 of width in a dose of 120 ml. The observations are revealed that on the effectiveness of the propolis extract and the dose in the inhibition of mycelial growth of *ascosphaera apis*, we notice that there is a difference between the effectiveness of propolis of two geographical origin between Tissemsilt and Tiaret Where we concluded that the propolis of the wilaya Tissemsilt is more effective. This difference is due perhaps to the area of resin collection, or the method of harvesting or the season or the race of the bee ect.

Keywords : propolis - antifungal activities - *ascosphaera apis* - bee

Résumé

Ascosphaera apis est l'une des maladies les plus dangereuses pour les abeilles domestiques, *Apis mellifère*. Elle provoque une réduction significative de la production de couvain et de miel, entraînant ainsi une perte économique dans l'apiculture. Dans la présente étude, le champignon pathogène a été isolé à partir de larves infectées. Et La présente étude vise à évaluer l'activité antifongique de l'extrait éthanolique de propolis Algérienne propre à deux wilaya (Tissemsilt ,Tiaret) , la propolis a été extraite à l'aide d'éthanol 90%, L'activité antifongique a été évaluée en équivalence avec les diamètres de zones d'inhibition mesurée en cm pour la diffusion sur le milieu culture ,après incubation à 28 °C pendant 5jours Des différences significatives ont été observées entre les deux extraits propolis de Tissemsilt et Tiaret, D'après les résultats obtenus, on remarque que l'inhibition de la croissance extrait de propolis est plus importante par rapport à l'éthanol. Alors que, le diamètre de *ascosphaera apis* commence à diminuer à partir 4ème dose de 30 ml, donc on a inscrit 1,6cm \pm 0,15 de longueur 1,3cm \pm 0,2 de large dans la région de Tissemsilt par contre le diamètre de l'*ascosphaera apis* avec le propolis de Tiaret ne diminue qu'à la 6ème et 7ème dose de 80-120 ml quand il atteint 1,4cm \pm 0,3 de longueur et 1cm \pm 0,2 de largeur dans une dose de 80 ml, 0,7cm \pm 0,05 de longueur et 0,3cm \pm 0,3 de largeur dans une dose de 120 ml. Les observations sont révélées que sur l'efficacité de l'extrait propolis et la dose dans l'inhibition de la croissance mycélienne d'*ascosphaera apis*, on remarque qu'il ya une différence entre l'efficacité de propolis de deux origine géographiques entre Tissemsilt et Tiaret Où nous avons conclu que la propolis de la wilaya Tissemsilt est plus efficace. Cette différence est due peut être à la zone de la collecte résine, ou la méthode de la récolte ou la saison ou bien la race de l'abeille ect. Mots-clés : propolis – activités antifongique – *ascosphaera apis* – l'abeille