



République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
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'études pour l'obtention du diplôme
De Master académique en :
Filière : Ecologie et environnement
Spécialité : Protection des écosystèmes

Présenté par : *M^{elle}* TIFENDJAR Inass

M^{elle} TIS Khadra Nour El Houda

Thème

**Activité Antifongique d'huile essentielle d'*Ammoides*
Verticillata sur le champignon pathogène des abeilles
domestiques *Ascospheera apis* dans la région de Tissemsilt**

Soutenu le :

Devant le Jury

M. JETTI Tayeb	Président	M.C.B	Univ-Tissemsilt
M. BOUNOUIRAYassine	Encadreur	M.C.B	Univ-Tissemsilt
M. CHAHBAR Mohamed	Examinatrice	M.C.A	Univ-Tissemsilt

Année Universitaire : 2022/2023

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.Bounouira Yassine Maitre conférence B pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bonsconseils, ses qualités humaines, ainsi à madame 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 à :

M. DJETTI Tayeb Maitre conférence B pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

M. CHAHBAR Mohamed Maitre conférence A pour l'honneur qu'il m'a réservé d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tous les enseignants et le personnel de notre université, côtoyés au cours 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



Dédicace

Je dédie ce mémoire à : Mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

Mes chers frères Sidali, Amine et Tarek et mes adorables sœurs : Imene et Aya, pour leur grand amour et leur soutien qu'ils trouvent aussi l'expression de ma haute gratitude.

Mon adorable binôme Nour El Houda et Mes chères amies Tahani ; katia, wahiba, maria qui sans leur encouragement ce travail n'aura jamais vu le jour.

Et à toute ma famille et à tous ceux que j'aime.

Inass



Dédicace

*Je dédie ce travail en premier lieu aux deux personnes les plus précieuses
de ma vie ***mes chers parents ***.*

*Quoi que je fasse je ne pourrais leur rendre ce qu'ils ont fait pour moi, si je
suis arrivé là c'est bien grâce à eux que dieu les bénisse, et leur accorde
longue vie et les protège.*

*A mon frère **Mourad***

Je demande à dieu de les bénir et de les protéger.

*A mon cher adorable binôme, **Tifendjar Inass.***

*A mes chères et inoubliables amies : **Saliha, Sarra, Kheira, wahiba,
marwa, Nour el Houda, Fatima, ferial.***

*A chère grand-mère que j'aime beaucoup, pour ses encouragements et ses
prières, que dieu la protège et prolonge sa vie.*

A toute ma famille

Nour el houda



Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Sommaire	
Introduction	01

Chapitre I

Partie Bibliographique

I. Ammoides verticillata	04
1. Généralités sur la plante	04
2. Systématique de la plante	05
3. Répartition géographique	06
4.1 Répartition dans le monde.....	06
4.2 Répartition en Algérie	06
4. Description botanique.....	06
5.1 Nomenclature	06
5.2 Classification botanique	06
5. Composition chimique	07
6. Utilisation médicinale.....	08
7. Utilisation thérapeutique	09
II. L 'Ascosphaera apis.....	10
1. Généralités sur l'Ascosphérose	10
2. Historique et répartition géographique de l'Ascosphérose.....	11
3. Position systématique de l'agent causal	11
4. La maladie du couvain plâtré	11
5. Les facteurs de stress déclenchant la maladie	12
6. Le pouvoir pathogène de l'ascosphérose.....	14
7. Traitement	15
III.L 'Apis mellifera	16
Introduction	16
1. L'abeille domestique et son origine	17
2. Systématique de l'abeille domestique Apis mellifera.....	18
3. Morphologie générale d'une Abeille	18
3.1 La tête.....	18
3.2 Le thorax.....	19
3.3 L'abdomen.....	19
4. Répartition géographique	19
5. Les différentes castes d'abeille domestique	19
5.1 La reine.....	19
5.2 Les ouvrières stériles	20
5.3 Les mâles ou faux bourdons.....	20
6. Cycle de développement.....	20

7. Les produits de la ruche.....	21
7.1 La gelée royale	21
7.2 La cire.....	21
7.3 Le pain d'abeille.....	22
7.4 La propolis.....	22
7.5 Le miel.....	23
IV. Les huiles essentielles.....	24
1. Définition des huiles essentielles.....	24
2. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	24
3. Composition chimique des huiles essentielles.....	25
4. Rôle des huiles essentielles.....	25
5. Les principaux domaines d'application.....	25
5.1 Alimentation.....	25
5.2 Pharmacie.....	26
5.3 Parfumerie et cosmétique.....	26
5.4 Aromathérapie.....	26
6. La toxicité des huiles essentielles.....	27
7. Les méthodes conventionnelles d'extraction.....	27
7.1 Entraînement à la vapeur d'eau.....	27
7.2 Hydrodistillation simple.....	28
7.3 Distillation à vapeur saturée.....	28
7.4 Hydro diffusion.....	29
7.5 Expression mécanique à froid.....	29
7.6 Enfleurage.....	30
7.7 Extraction par les solvants.....	30
8. Activité biologique des huiles essentielles.....	30
8.1 Activité antibactérienne.....	30
8.2 Activité antioxydant.....	30
8.3 Activité anti-inflammatoire.....	31
7.4 Activité antifongique.....	31

Chapitre II Matériel Et Méthode

Partie I : Zone d'étude	32
1. Présentation de la zone d'étude.....	32
2. La topographie.....	32
3. Principaux indicateurs de la wilaya.....	33
4. Situation géographique et administrative de la wilaya de Tissemsilt...33	
5. Facteurs climatiques.....	34
5.1 Pluviosité.....	34
5.1.1 Régimes pluviométriques.....	34
5.1.2 Régimes annuels.....	35
5.1.3 Régimes mensuels.....	35
5.2 Températures.....	36
5.2.1 Températures moyennes mensuelles.....	36

5.2.2	Températures moyennes des maxima du mois le plus chaud « M »	37
5.2.3	Températures moyennes des minima du mois le plus froid « m »	37
6.	Synthèse bioclimatique	37
7.	Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausson	38
8.	La population de la commune de TISSEMSILT	38
8.1	La démographie	38
Partie II : Partie expérimentale		39
1.	Matériel biologique	39
1.1	Matériel végétal	39
1.2	Matériel fongique	39
2.	L'extraction de l'huile essentielle	39
3.	Isolement du champignon	40
3.1	Purification	40
4.	Identification	41
4.1	Identification des moisissures	41
4.2	Conservation	42
5.	Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle	42
5.1	Méthode de contact direct	42
5.2	Préparation des dilutions	43
5.3	Ensemencement du champignon	44
5.4	Incubation	44
5.5	La lecture	44
5.6	Taux d'inhibition	45
6.	Analyses statistiques	46

Chapitre III : résultat et discussion

I.	Résultat	47
1.	Examen macroscopique et microscopique de <i>l'Ascosphaera apis</i>	47
1.1	Examen macroscopique	47
1.2	Examen microscopique	47
2.	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite	48
2.1	Évaluations de l'activité antifongique des huiles essentielles	48
2.2	Taux d'inhibition de <i>l'Ascosphaera apis</i> par l'huile essentielle de <i>l'ammoides verticillata</i>	49
3.	Taux de la croissance mycélienne de <i>l'Ascosphaera apis</i> après l'utilisation de l'huile essentielle de <i>l'ammoides verticillata</i>	50
II. Discussion		51
Conclusion		53
Références bibliographiques		55
Résumé		-

Liste des figures

Figure 01 : <i>Ammoides verticillata</i>	04
Figure 02 : Aspect microscopique des balles de spores <i>d'Ascospaera apis</i>	10
Figure 03 : Le couvain plâtré ascosphérose.....	12
Figure 04 : <i>Apis mellifera</i>	17
Figure 05 : Schéma de la morphologie générale d'une abeille.....	18
Figure 06 : Morphologie des trois castes.....	20
Figure 07 : Cycle de développement de l'abeille	21
Figure 08 : l'hydrodistillation simple	27
Figure 09 : distillation à vapeur saturée.....	28
Figure 10 : l'hydro diffusion	29
Figure 11 : Image satellitaire de La wilaya de Tissemsilt	32
Figure 12 : Situation géographique de la wilaya de Tissemsilt.....	34
Figure 13 : Evolution des précipitations annuelles.....	35
Figure 14 : Moyennes des précipitations mensuelles de la période	36
Figure 15 : Variation des moyennes mensuelles des températures de la période ...	37
Figure 16 : diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tissemsilt.	38
Figure 17 : Montage d'hydrodistillation type Clevenger (originale)	40
Figure 18 : Purification de <i>l'Ascospaera apis</i> (originale)	40
Figure 19 : Technique de micro culture	42
Figure 20 : Méthode de contact direct(original).....	43
Figure 21 : Préparation des dilutions(original).....	44
Figure 22 : incubation les boîtes de pétri dans une étuve à 27°C (Photo originale).	45
Figure 23 : la représentation de l'efficacité des vapeurs d'extraits de plantes dans l'inhibition de la croissance mycélienne du champignon (<i>Ascospaera 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.....	45
Figure 24 : Aspect macroscopique de <i>l'Ascospaera apis</i> (originale).....	45
Figure 25 : Aspect microscopique de <i>l'Ascospaera apis</i> (Originale).....	47
Figure 26 : L'activité antifongique l'huile essentielle de <i>l'Ammoides verticillata</i> contre <i>Ascospaera apis</i>	47

Figure 27 : Taux d'inhibition de *l'Ascospheera apis* par l'huile essentielle de
l'*Ammoidesverticillata*..... 49

Figure 28 : Taux de la croissance mycélienne de *l'Ascospheera apis* après l'exposition à
l'huileessentielle de *l'Ammoides verticillata* 50

Liste des tableaux :

Tableau 01 : Classification botanique <i>d'Ammoides verticillata</i>	07
Tableau 02 : Pourcentages des constituants de l'huile essentielle <i>d'Ammoides verticillata</i> de différents pays	08
Tableau 03 : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle <i>d'Ammoides verticillata</i>	13
Tableau 04 : test ANOVA pour l'inhibition du champignon (<i>Ascospheara apis</i>) avec l'huileessentielle de <i>l'Ammoides verticillata</i>	48

Introduction

Introduction

L'abeille domestique (*Apis mellifera* (**Linnaeus,1758**)) constitue un être vivant indispensable à l'équilibre environnemental dans le monde en tant que pollinisateur de très nombreuses espèces végétales (**Merbt, 2015**), « Si les abeilles disparaissaient, 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**)

L'abeille domestique (*Apis mellifera*) est considérée parmi les plus importants animaux dans l'opération de la pollinisation (**Morse et Calderon, 2000**). Selon plusieurs chercheurs (**Jaffé et al., 2010 ; Muñoz et al., 2014**), cet insecte est le principal pollinisateur des plantes et des cultures dans le domaine de l'agriculture sans pour autant oublier tous les domaines ayant une relation directe avec les écosystèmes. Outre la pollinisation, l'abeille présente en effet un intérêt économique indéniable. De plus, les abeilles sont d'excellents indicateurs biologiques (**Sabatini, 2005**) parce qu'elles signalent la présence d'une chimie au niveau de l'environnement dans lequel elles vivent. Cette signalisation est indiquée par le biais de deux signaux ; le degré de mortalité élevé et les résidus qu'on peut retrouver sur le corps des abeilles ou dans les produits de la ruche (les substances phytosanitaires utilisées en agriculture, les antiparasitaires et les agents polluants comme les métaux lourds et les radionuclides). Par ailleurs, de nombreuses caractéristiques éthologiques et morphologiques font de l'abeille un bon indicateur écologique. Son corps est en grande partie recouvert de poils qui capturent les substances qu'elle rencontre en vol. Elle est hautement sensible à la plupart des antiparasitaires qui peuvent être présents en cas d'épandage inapproprié dans l'environnement (**Sabatini, 2005**).

Introduction

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

L'ascosphérose est une maladie causée par le champignon *Ascosphaera Apis* qui, lorsqu'il se reproduit et sporule dans les larves d'abeilles mellifères (*Apis mellifera*), provoque leur momification (momies noires et blanches), réduit la taille de la population de leurs colonies et, dans certaines régions, peut entraîner des pertes élevées de production de miel. En présence d'*Ascosphaera Apis*.La demande de miel biologique pour l'exportation a récemment augmenté, d'où l'option de la lutte biologique et naturels. (**Medina et *al.*, 2022**).

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

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

Dans cette étude, notre objectif principal était de souligner et de mettre en avant l'activité antifongique d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* sur la croissance de champignon *Ascosphaera Apis* comme substances naturelles alternatives des produits chimiques utilisées dans le traitement.

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

- Nous avons débuté notre travail en rédigeant une introduction générale afin de poser les bases de notre étude.

Introduction

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

Chapitre I :
Synthèse
bibliographique

I. *Ammoides verticillata*

1. Généralités sur la plante :

Les plantes avec leur nombre illimité constituent un réservoir immense de nouveaux composés médicinaux potentiels, grâce à leurs molécules qui présentent l'avantage d'une grande diversité de structure chimique et activités biologiques (Madi, 2010).



Figure 01 : *Ammoides verticillata* (Vincent Lejeune, 2009)

Ammoides verticillata est une plante odorante, caractérisée par ses fleurs blanches, ses graines riches en essence et forte odeur aromatique, caractéristique du thymol qui ont un goût qui rappelle beaucoup celui du thym, on la trouve généralement dans les champs, les pelouses, les montagnes et dans les forêts (Quezel et Santa, 1963).

Cependant, les principaux pays cultivateurs sont l'Egypte, l'Iran et surtout l'Inde (Quezel et Santa, 1963 ; Baytop et Sfitlipinar, 1986 ; Khajeh et al., 2004). Son appellation dans notre pays est Nounkha ou Nûnkha, tirée du nom Perse « Nankhah » qui est utilisée en Iran, comme aromate dans le pain. En effet, « Nan » et « Khah » signifient respectivement pain et goût (Baytop et Sfitlipinar, 1986).

En Algérie, cette plante jouit d'une grande faveur populaire. En effet, elle est particulièrement utilisée dans la préparation de la soupe d'escargot et comme tisane (Kambouche et al., 2003).

La plante *Ammoides verticillata* est largement utilisée pour prévenir et guérir diverses maladies. Un nombre élevé de propriétés médicinales et thérapeutiques des différentes parties

de la plante a été décrit. Elle est surtout utilisée pour soigner les problèmes respiratoires, rhume, fièvre, migraine, troubles gastriques, infections rénales etc...

Ainsi, les graines de la plante montrent plusieurs effets thérapeutiques à savoir : diurétique, analgésique, carminatif, anti-diarrhéiques, antihistaminique, vermifuge, ...et antiasthmatique (Felidj et al., 2010).

2. Systématique de la plante

Ammoides verticillata appartient à la famille des Apiacées. C'est une famille très abondante elle comprend plus de 3000 espèces avec 55 genres représentés en Algérie. Le genre *Ammoides* comprend deux espèces : *Ammoides verticillata* (plante annuelle) et *Ammoidesatlantica* (plante bisannuelle) D'après (Benoit et al., (2016).

La plante est assez rare mais elle est aussi endémique dans certaines différentes régions dont elle est appelée par des noms vernaculaires ou vulgaires propres à chaque région.

- **En Arabe (Algérie) : Nounkha/ Núnkha, Ajowan/Ajawain/Ajwan** (Merrad,1973),**Nanoukha** (Trabut, 1935), **Taleb El Koubs** (Abdelouahid, 2004).
- **Au Maroc : Nunkha** (Sijelmassi, 1991).
- **En France : Ajowan** (Wehmer, 1931 et Afnor, 1992), **Faux Ammi Fuet, Cerfeuil.**
- **En Angleterre: carom seed, False Parsely, Cerfolium.**
- **En Inde : Kamun al-muluki, Nakhwah, Nahwah, thym des Indes.**
- **En Allemagne :Adiowan, cumin éthiopien.**
- **En Espagne : Ammoides, Tarraguillo.**

La plante *Ammoides verticillata* appelée populairement Nounkha. Elle tire son origine de la déformation du nom perse « Nankhah » qui provient de son utilisation en Iran comme arôme dans le pain (Nan et Khah signifiant respectivement pain et goût. (Seddik, 2010).

3. Répartition géographique.

3.1. Répartition dans le monde :

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

3.2 Répartition en Algérie :

C'est une espèce Algérienne endémique. D'après **Quezel et Santa**, *l'Ammoides verticillata* est une plante médicinale Algérienne poussant dans la région de Tlemcen (Nord d'Ouest d'Algérie) et dans la région d'Adrar (Sud d'Ouest d'Algérie). Selon (**Dahmani,1997**), (**Bouzza et al,2001**) et (**Ayach,2007**) ces régions sont caractérisées par des sols calcaires. La plante est abondante dans les champs, les pelouses ou dans les forêts et/ ou sur les altitudes montagneuses d'environ 1190m d'hauteur.

4. Description botanique

Plante annuelle de 15-35 cm. glaucescente, à racine grêle, pivotante ; tige dressée, Striée, grêle, à nombreux rameaux étalés ; feuilles radicales pennatiséquées, à 3-5 Segments très rapprochés, étroits, trifides, fruit petit et ovoïde (**Benoît, 2012**).

4.1. Nomenclature

- Non vernaculaire : Nounkha (**Merad.,1973**)
- Nûnkha (**Sijelmassi.,1991**)
- Non scientifique : *Ptychotis verticillata* (**Sijelmassi.,1991**)
- En français : (Ajowan ou Ajawain)
- En arabe : (Taleb El koubs).

4.2. Classification botanique

Ammoides (ou Ptychotis) verticillata est classé selon la clé de détermination botanique, d'après **Quezel et Senta (1963)** et **Guinochet et Vilmorin (1975)** dans le tableau 01 :

Tableau 01 : Classification botanique d'*Ammoides verticillata*.

Embranchement	Phanérogames
S'embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
S. classe	Dialypétales
Série	Calciflores
Ordre	Ombellales
Famille	Apiacées (Ombellifères)
Genre	<i>Ammoides</i> ou <i>Ptychotis</i>
Espèce	<i>Verticillata</i>

5. Composition chimique

Beaucoup de travaux chromatographiques CPG/SM sont réalisés sur Les huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* dans plusieurs pays dans le monde. L'analyse chromatographique montre que l'essence d'*Ammoides verticillata* est constituée de monoterpènes : Linalol, Thymol, γ Terpinène, Limonène, p-Cymène, α -Terpinène. L'identification du produit majoritaire (le thymol) a été identifiée par la spectroscopie sous toutes ses formes (Tableau 02).

Selon la littérature, l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* présente deux chemotypes phénoliques : le thymol et le carvacrol. L'étude réalisée sur l'huile essentielle a permis de mettre en évidence un troisième chemotype : l'isothymol. (Kambouche et El Abeb, 2003). La variation du pourcentage des constituants observée est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs comme : l'origine géographique, les conditions climatiques, le mode d'extraction.

Tableau 02 : Pourcentages des constituants de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de différents pays. (Balbaa et al., 1973 ; Chalva et Monguzzi, 1993 ; Berhane, 1981 ; Ishwar et al., 1963 et Haskar, 1959).

Pays Constituants	Egypte	Turquie	Ethiopie	Inde	Algérie
α - pinène					0.62
Camphène	-	t	-	0.31	
β - pinène	3.30	3.31	0.51	0.08	0.16
3-carène	0.50	t	-	0.17	
Myrcène	0.10	0.56	1.00	0.13	0.40
α - terpinène	-	t	10.00	-	
Limonène	0.20	2.08	-	-	11.99
β - phellandrène	-	0.18	11.00	-	
γ - terpinène	24.50	11.86	-	2.51	6.79
p-cymène	24.00	15.57	-	37.83	14.08
sabibène	-	-	-	-	0.13
terpinène4-ol	-	1.13	0.10	-	0.79
α -terpinéol	-	0.19	0.10	-	0.08
α - thujène	-	-	-	-	0.08
isothymol	-	-	-	-	51.20
thymol	41.00	61.31	-	55.70	12.96
carvarol	1.00	0.6	69	-	0.25
m-cymène	-	-	-	-	t
terpinolène	-	-	-	-	0.09
linalool	-	-	-	-	t
p-menth-	-	-	-	-	t
èneilol	-	-	-	-	t
citronellal	-	-	-	-	0.30
méthylthymol	-	-	-	-	0.60
méthicarvacrol					

(t) : trace ; (-) : résultats négative

6. Utilisation médicinale

La plante *Ammoïdes verticillata* est largement utilisée pour prévenir et guérir diverses maladies. Un nombre élevé de propriétés médicinales et thérapeutiques des différentes parties de la plante a été décrit. Elle est surtout utilisée pour soigner les problèmes respiratoire, rhume, fièvre, migraine, troubles gastriques, infections rénales. Ainsi, les graines de la plante

montrent plusieurs effets thérapeutiques à savoir : diurétique, analgésique, carminatif, anti-diarrhéique, antihistaminique, vermifuge, et antiasthmatique (**Felidj et al .,2010**).

8. Utilisation thérapeutique

L'enquête réalisée auprès des herboristes a montré que cette espèce aide à guérir de nombreuses maladies. Elle est utilisée en décoction ou en infusion pour la fièvre typhoïde, comme antipyrétique, antispasmodique, dépuratif pour les affections rénales ; aussi, avec le citron pour la migraine et les céphalées. Le mélange de la plante broyé avec du miel traite l'asthme et les douleurs gastriques. L'inhalation de la vapeur dégagée lors de l'ébullition de la plante traite la fièvre, le rhume et la grippe ainsi que les maladies broncho-pulmonaires.

Des études antérieures ont montré une forte activité antioxydante de l'huile essentielle de cette plante qui est due à sa contenance en composés phénoliques comme le thymol et le carvacrol qui servent à traiter les infections bactériennes, virales, cutanées, les infections ORL (oto-rhino-laryngologie) et le rhumatisme (**Knobloch et al., 1989**).

II. L'*Ascosphaera apis*

1. Généralités sur l'Ascosphérose

L'ascosphérose des abeilles est un problème grave pour l'apiculteur. Chez les humains, cette maladie est appelée couvée calcaire, car les insectes adultes sont porteurs d'agents pathogènes, mais ne tombent pas malades, et seules les larves sont infectées et meurent. La plupart des champignons associés aux abeilles ne se révèlent pas problématiques pour les apiculteurs. Par contre, l'ascosphérose est la principale mycose qui engendre des inquiétudes. L'ascosphérose (*Ascosphaera apis*), est un genre de 28 espèces de champignons spécialistes de l'abeille, avec une distribution mondiale dans les régions tempérées et tropicales. Toutes les espèces réalisent leur cycle de vie entier dans des nids d'abeilles (Aronstein, 2010).

L'ascosphérose une maladie fongique Communément appelée « mycose », « maladie du couvain plâtré », ou « maladie du couvain calcifié », l'ascosphérose est provoquée par le champignon *Ascosphaera apis*, il est réputé parasiter uniquement les larves de l'abeille européenne (*Apis mellifera*), de l'abeille asiatique (*Apis cerana*) et d'une abeille charpentière (*Xylocopacalifornica*). L'ascosphérose est rarement responsable d'une mortalité importante allant jusqu'à la perte de colonies, mais perturbe fréquemment le développement de ces dernières, ce qui se traduit par une perte économique importante pour l'apiculteur. Il ne s'agit pas d'une maladie réglementée (Hugo, 2019).

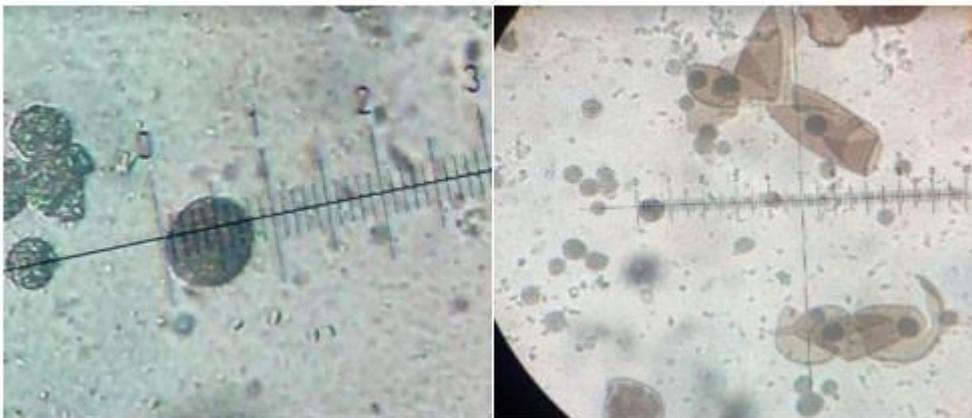


Figure 02 : Aspect microscopique des balles de spores d'*Ascosphaera apis* (Gr X 400) (Chahbar, 2017).

2. 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 Turquie. En 1993, elle a été identifiée en Australie (Albo et al, 2017).

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 (Albo et al, 2017).

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 (Albo et al, 2017).

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).

3. Position systématique de l'agent causal

Règne	Fungi
Division	Ascomcota
Sous-division	Pezizomcotine
Classe	Eurotiomycetes
Sous-classe	Eurotiomcetidae
Ordre	Ascosphaerales
Famille	Ascosphaeraceae
Genre	Ascosphaera
Espèce	<i>Ascosphaera apis</i> (Spiltoir et Olive, 1955)

4. La maladie du couvain plâtré

Le couvain plâtré est une maladie fongique du couvain d'abeilles causée par *Ascosphaera apis*. Cette maladie est maintenant présente dans le monde entier et il y a des

indications que l'incidence du couvain calcaire pourrait être en augmentation (Aronstein et al., 2010).

Le couvain plâtré est une mycose invasive des abeilles mellifères (*Apis mellifera*) produite par *Ascospaera apis* (Spiltoir,1955 ; Spiltoir et Olive,1955) qui affecte exclusivement le couvain d'abeilles.

Bien que mortelle pour les larves individuelles, la maladie ne détruit généralement pas une colonie d'abeilles entière. Cependant, il peut entraîner des pertes importantes en termes de nombre d'abeilles et de productivité des colonies (Bailey,1963) (Wood,1998), avec des réductions de la production de miel de 5 à 37 % signalées (Heath, 1982) (Yacobson et al, 1991) (Zaghloul et al, 2005).

Le couvain crayeux se trouve maintenant dans les colonies d'abeilles mellifères du monde entier, et il semblerait que l'incidence du couvain crayeux ait augmenté ces dernières années (Heath, 1985, Kluser et Peduzzi, 2007 ; Ajzen et al, 2009) ont montré que les activités humaines liées à l'augmentation de la demande alimentaire ont des effets directs et indirects qui pourraient être au moins en partie responsables de cette tendance.

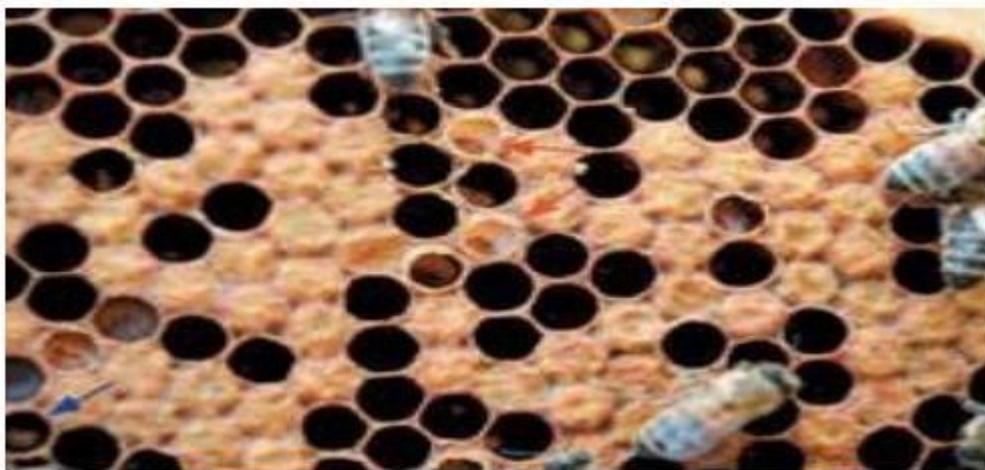


Figure 03 : Le couvain plâtré ascosphérose (Aronstein et al, 2010)

5. 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, 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)**

6. Le pouvoir pathogène de l'ascosphérose

Les larves d'abeilles peuvent ingérer les spores pathogènes à tout âge. Généralement, ce sont les larves de faux bourdons qui sont atteintes en premier, puis les larves d'ouvrières, voire celles des reines.

Les spores se développent dans le tube digestif des larves et donnent naissance à un mycélium (forme végétative du champignon) qui traverse d'abord la paroi intestinale, puis envahit tous les tissus de l'insecte en formation et passe finalement à travers la cuticule. Bien qu'on n'ait pas détecté de chitinases chez le champignon parasite, l'équipement enzymatique d'*Ascospaera apis* est néanmoins capable de lyser des constituants de l'exosquelette de l'abeille. Les très jeunes larves (âgées de 1 à 2 jours) cessent de se nourrir peu de temps après la consommation des spores d'*Ascospaera apis* (Aronstein et al, 2013).

Elles peuvent survivre jusqu'à 48 h, mais meurent généralement avant l'apparition de signes visibles de la maladie fongique. Les larves plus âgées (3 à 7 jours) continuent de se nourrir, mais à un rythme ralenti. Dans un premier temps, des masses blanchâtres de mycélium sont visibles sous la cuticule translucide de la larve contaminée qui meurt généralement 72 h après l'inoculation du germe pathogène. Ensuite, un feutre fongique couvre progressivement le cadavre larvaire, excepté la tête, en commençant par la partie postérieure. Les larves mortes deviennent d'abord spongieuses, puis sèchent, durcissent et prennent l'apparence ascosphérose d'un morceau de craie : d'où la dénomination de « couvain plâtré » (Aronstein et al, 2010).

Les larves « momifiées » n'adhèrent pas aux parois des alvéoles et produisent un bruit de grelot lorsqu'on secoue un cadre fortement atteint. Les abeilles perforent les opercules des cellules contenant des momies pour les évacuer.

À ce stade, on note la présence de larves momifiées blanches et/ou noires dans le fond de la ruche et sur la planche (Alonso et al, 1993). Les espèces pathogènes d'*Ascospaera* n'affectent que le stade larvaire des abeilles. Généralement, les larves malades meurent au stade larvaire ; cependant, dans de rares cas, on a observé que les larves entrent en nymphose avant d'être vaincues par le champignon.

Les espèces pathogènes d'*Ascospaera* semblent être des champignons hautement spécialisés avec des ascospores qui ne germent généralement que lorsqu'elles se trouvent dans l'intestin moyen de leur hôte.

La germination des spores est suivie d'une croissance rapide des hyphes, le champignon consommant la larve de l'intérieur vers l'extérieur (**Stephen et al, 1981**). Deux espèces pathogènes répandues, *Ascosphaera agrégat* et *Ascosphaera apis*, présentent un intérêt économique en raison de leur potentiel d'impact négatif sur les populations de pollinisateurs commerciaux, à savoir *Apis mellifera* et *Megachilerotundata* (Fabricius) (**James, 2008**) ; (**Aronstein, 2010**).

7. Traitement

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

- Le positionnement de la ruche dans un espace ensoleillé et sec, avec notamment une ouverture orientée vers le sud.
- L'étanchéité du toit et une surélévation par apport au sol, de façon à limiter l'introduction de l'humidité, ainsi qu'une inclinaison de la ruche vers l'avant et une bonne aération afin de favoriser l'élimination de l'eau ;
- Un renouvellement régulier des anciens cadres, un nettoyage fréquent du plancher de la ruche.
- L'élimination des colonies sévèrement infectées et affaiblies. (**Hugo .2019**)

III. L'*Apis mellifera*

Introduction

Depuis les temps anciens, les abeilles ont toujours fasciné les gens. Ce sont des insectes qui apparaissent lors des journées ensoleillées et visitent des fleurs. Les abeilles sont d'importants pollinisateurs à la fois pour la végétation naturelle et les cultures. Certains apoïdes fabriquent des produits utiles, en particulier le miel et la cire. Pour un biologiste, les abeilles sont aussi fascinantes en raison de leurs nombreuses adaptations à diverses fleurs, de leur capacité à trouver des matières alimentaires et de nidification, leur capacité à se rappeler où les ressources ont été trouvées et revenir à elles et leurs dispositifs architecturaux qui permettent le stockage des aliments.

La connaissance de la diversité des abeilles, notamment celles qui sont sauvages, devient nécessaire pour le maintien et la conservation des populations. Elles participent de manière prépondérante à la pollinisation de nombreux végétaux (MICHEZ, 2002). Leur grande mobilité qui, pour certains, peut s'étendre sur de longues distances est aussi un élément déterminant dans le maintien du flux génétique des populations éloignées (VELTEROP, 2000). Plus de 20000 espèces d'abeilles (sociales et solitaires) dans le monde contribuent à la survie et à l'évolution des plantes à fleurs. En milieu naturel, les apoïdes ont une grande importance dans le maintien de la biodiversité des plantes sauvages (VAISSIERE, 2002). Le rôle de ces insectes est surtout d'importance agroéconomique car ils influencent positivement la production agro-alimentaire (PAYETTE, 2004). La pollinisation effectuée par les abeilles est remarquable sur le plan quantitatif et qualitatif (VAISSIERE, 2002).

1. L'abeille domestique et son origine

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

miel, de la cire et d'autres produits, qui représentent des nutriments aux vertus médicinales, sources d'aliment et de revenus de valeur (**Bradbear, 2010**).

2. Systématique de l'abeille domestique *Apis mellifera*

Les abeilles domestiques sont des insectes sociaux vivant dans des colonies qui peuvent comprendre jusqu'à 50 000 individus (**Atmane et Moucer, 2017**). Elles appartiennent à l'ordre des Hyménoptères, la famille des Apidae et au genre *Apis* (Fig.04). **Ravazzi (2003)** rapporte que l'abeille domestique appartient à la classification suivante :

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* (**Linnaeus , 1758**)



Figure 04 : *Apis mellifera* (**M'henni, 2013**)

3. Morphologie générale d'une Abeille

Les abeilles sont des insectes qui ont six pattes (Hexapoda) et deux paires d'ailes membraneuses qui sont reliées entre par des petits crochets appelés hamuli. Son corps est divisé en trois parties distinctes : tête, thorax et abdomen

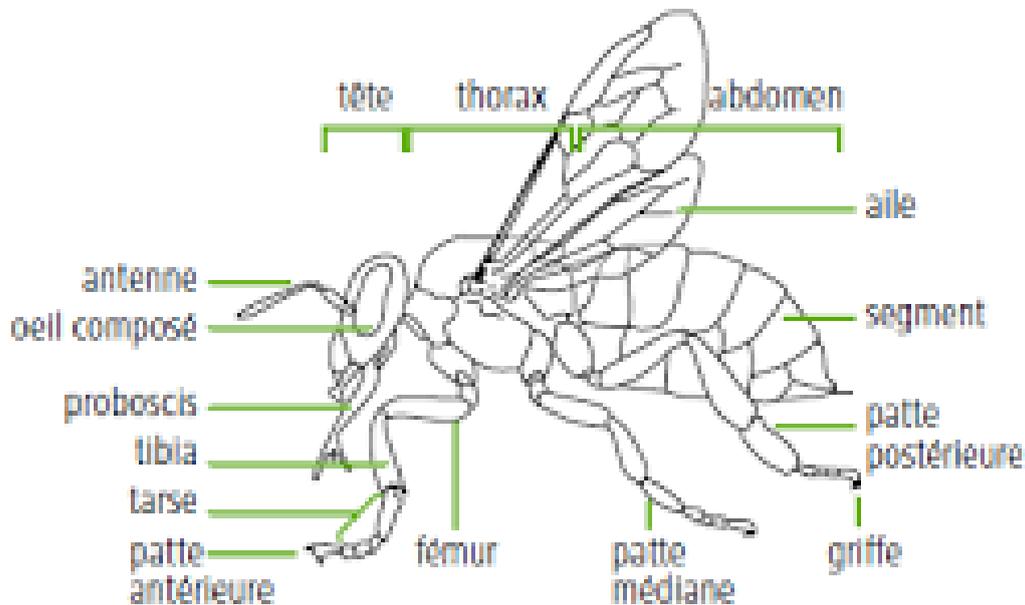


Figure 05 : Schéma de la morphologie générale d'une abeille

3.1 La tête

La tête comporte les pièces buccales, les glandes associées et les pièces sensorielles : les yeux, les antennes et les poils sensitifs. Les pièces buccales comportent :

- Une paire de mandibules
- Proboscis ou langue constituée de la maxille et du labium. Le proboscis étendu mesure entre 5,3 et 7,2 mm selon la race, ce qui détermine les fleurs que les abeilles peuvent butiner, plusieurs études ont démontrés que la longueur de la langue influe sur la récolte du pollen.

3.2 Le thorax

Le thorax, est recouvert de nombreux poils qui dissimulent sa segmentation ; il est réuni à la tête par l'intermédiaire du cou qui est souple et très court. Le thorax est composé de trois segments appelés prothorax, mésothorax et métathorax, chacun d'entre eux étant composé de 4 parties distinctes : une plaque dorsale, une ventrale et deux latérales. Ces plaques se nomment respectivement tergite, sternite et pleures (**BIRI, 2002**).

3.3 L'abdomen

L'abdomen est généralement velu. Il comporte 7 segments visibles et contient les organes internes ainsi que le dard. Deux segments supplémentaires peuvent être trouvés (avec l'aiguillon ou les organes reproducteurs) mais ils sont très petits.

4. Répartition géographique

L'abeille appartient à la classe des insectes. La plus répandue dans le monde est *Apis mellifera*, qui s'étend depuis la pointe sud des savanes africaines, passant par la méditerranée jusqu'à atteindre la limite de son expansion en Europe du nord et en Scandinavie du sud. Une telle variété d'habitat, de conditions climatiques et de flore, a permis l'apparition de nombreuses sous espèces ou races géographiques qui sont interfécondes, chacune avec ses caractéristiques morphologique et physiologique adaptées à chaque région (**CHAUVIN, 1968**). La race présente en Algérie *Apis mellifera intermissa* est également appelée abeille tellienne. *Apis mellifera sahariensis*, ou abeille saharienne, a été décrite par **HACCOUR (1961)**. C'est une abeille jaune de petite taille, à indice cubital élevé. Elle est peu agressive et possède une résistance remarquable aux conditions difficiles du milieu. Elle se retrouve au sud du Maroc et de l'Algérie.

5. Les différentes castes d'abeille domestique

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

5.1 La reine

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

5.2 Les ouvrières stériles

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

5.3 Les mâles ou faux bourdons

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

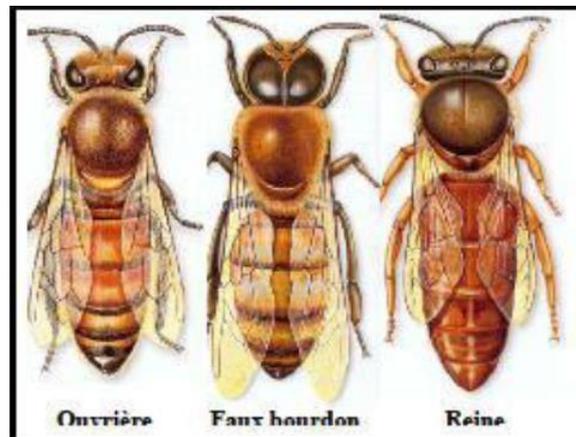


Figure 06 : Morphologie des trois castes (Clément, 2011)

6. Cycle de développement

Les abeilles sont dites insectes holométaboles, c'est à dire leur cycle évolutif comporte une métamorphose complète. En effet l'état larvaire est complètement différent à celui de l'adulte (**Biri, 2010**).

Le cycle de développement des abeilles se déroule en trois phases dont la durée diffère selon l'individu (**Fig.07**) (**Gilles, 2010**) :

- le stade de l'œuf dure 03 jours chez les trois castes.

- Le stade larvaire dure 5 jours chez l'ouvrière et le faux-bourdon et 8 jours chez la reine (Clémence, 2017).
- Le stade nymphal dure 4 jours chez la reine ,13 jours chez l'ouvrière, et 16 jours chez le faux-bourdon (Gilles ,2011).

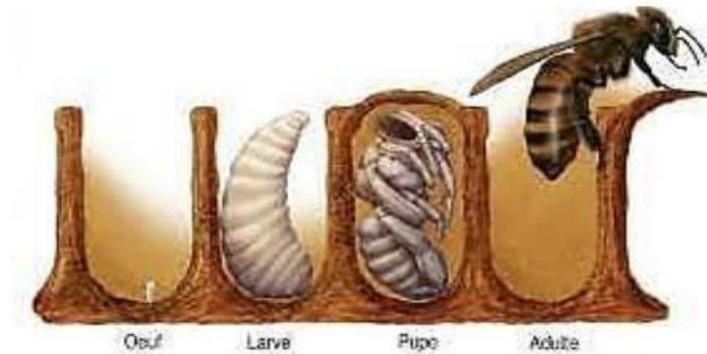


Figure 07 : Cycle de développement de l'abeille (Clémence, 2017).

7. Les produits de la ruche

7.1 La gelée royale

La gelée royale est le produit de sécrétion des glandes hypo-pharyngiennes qui se trouvent dans la tête des abeilles ouvrières, La gelée royale est un concentré naturel d'acides L'appareil digestif : ses parties et les glandes annexes aminés essentiels, un cocktail de vitamines (B, A, C, D, E), de sels minéraux, et d'oligo-éléments (calcium, fer, cuivre, phosphore, potassium...).

C'est une substance blanchâtre à consistance gélatineuse, acide et légèrement sucrée, produite par les abeilles nourrices. Elle constitue la nourriture exclusive de toutes les larves de 0 à 3 jours et de la reine pendant toute la durée de son existence.

7.2 La cire

La cire d'abeille est une matière molle, jaunâtre et fusible produite par les glandes cirières des ouvrières.

Les glandes cirières, situées sur la face ventrale de l'abdomen de l'abeille excrètent des lamelles ou « écailles » de cire transparente. L'abeille les recueille une à une avec ses pattes, les porte à la bouche, en façonne des boulettes, les passe à d'autres ouvrières qui, à l'aide de

leurs mandibules, les malaxent et y incorporent un solvant d'origine salivaire pour rendre le mélange plus aisé.

L'abeille utilise la cire pour construire des cellules huiles essentielles agonaes qui contiennent selon les besoins de la ruche, le couvain, le miel ou le pollen. Elle l'utilise également en fine couche pour operculée les alvéoles contenant le couvain et le miel (CHRISTIN, 2011).

7.3 Le pain d'abeille

Dans la ruche, le pollen frais est imprégné à nouveau des sécrétions salivaires des abeilles. Ensuite il est tassé dans le fond des cellules. Là il va fermenter sous l'action de la chaleur et de l'humidité. Il va aussi germer c'est à dire qu'il va se détacher de son sporoderme. Sous l'action de cette fermentation il va devenir le « pollen lactofermenté » ou pain d'abeilles. Ce dernier est directement assimilable par les larves et les jeunes abeilles. L'abeille travaille les anthères de la fleur avec ses parties buccales pour en faire tomber les grains de pollen. Avec ses pattes elle brosse soigneusement son corps velu recouvert de pollen qu'elle agglomère avec un peu de nectar contenu dans son jabot. Les pelotes ainsi formées sont transférées depuis les pattes antérieures, vers les pattes intermédiaires puis fixées sur les éperons des corbeilles à la surface externe des pattes postérieures. La voilà bien chargée de pollen, elle rentre alors à la ruche, décroche les pelotes dans une alvéole et retourne à son butinage (CHRISTINE, 2011).

7.4 La propolis

La propolis est la substance qui est à l'entrée de la ruche et qui protège la colonie. C'est le médicament de la ruche. Elle est fabriquée à partir des résines végétales sécrétées par les bourgeons et l'écorce de certains arbres : peuplier, bouleau, aulnes, frênes, saules, épicéa, où ces résines sont déjà destinées à protéger les jeunes cellules des arbres. La propolis possède une composition variable selon les espèces botaniques que les abeilles visitent. Néanmoins, on a pu identifier plus de 150 constituants différents qui la composent. De manière générale, la propolis que l'on trouve dans la ruche est composée de :

- 50 à 55% de résines et baumes
- 25 à 35% d'huiles volatiles ou essentielles
- 10% de cire d'huiles volatiles ou essentielles

- 5% de pollen
- 5% de matières diverses organiques et minérales.

7.5 Le miel

Le miel est une substance sucrée élaborée par les abeilles domestiques à partir de nectar ou de miellat. Elles l'entreposent dans la ruche et s'en nourrissent tout au long de l'année, en particulier lors de périodes climatiques défavorables. Il est aussi consommé par d'autres espèces animales, dont l'espèce humaine qui organise sa production par l'élevage des abeilles à miel. Le miel contient en moyenne environ 75 % de sucre, principalement du glucose et du fructose dont le pouvoir sucrant est plus important que celui du saccharose. Le saccharose et le maltose sont aussi présents mais en beaucoup plus petites proportions. Il contient aussi 18 % d'eau, 1% de pollen et 2 à 3 % d'acides aminés, vitamines (essentiellement des vitamines B) et oligoéléments. Cette richesse varie selon la spécificité de chaque miel mais elle en fait dans tous les cas un élément sucrant bien plus intéressant pour l'organisme que le saccharose.

IV. Les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles

Ce sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des composés liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie qui est Paromathérapie (**Benayad, 2008**).

Au point de vue chimique, il s'agit de mélanges extrêmement complexes. Les huiles essentielles sont constituées de différents composants comme les terpènes, esters, cétones, phénols, et d'autres éléments (**Benayad, 2008**).

2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (**Roger, 2010**). Elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques (**Chenni, 2016**), parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées (**Bruneton, 1999**).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (eucalyptus, laurier noble, menthe poivrée) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal blanc), des racines (angélique), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (aneth, anis, badiane), des graines (muscade) (**Figueredo, 2007**).

Les huiles essentielles se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré. Puis, elles s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, à savoir, des cellules à huiles essentielles (Lauraceae et Zingiberaceae), des poils glandulaires épidermiques qui produisent les essences dites superficielles (Labiaceae, Geraniaceae et Rutaceae), des poches sécrétrices (Myrtaceae, Aurantiaceae, Rutaceae) ou encore des canaux sécréteurs **Apiaceae, Umbelliferaeae et Asteraceae** (**Abdelli, 2017**).

3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits de composition assez complexe et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Ce sont des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes qui sont présentes, à l'état naturel, en faible quantité dans le végétal et qui appartiennent principalement à deux grands groupes : Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes. On y trouve également des hydrocarbures aliphatiques, entraînés lors de l'hydrodistillation, de chaînes linéaires ou ramifiées et porteurs de différentes fonctions (cétone, aldéhyde, acide, alcool, ester, ...) (**Bruneton., 1999**).

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

4. Rôle des huiles essentielles :

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques Permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique) : attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines.

Rôle défensif protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores.

Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais, en pratique, peu d'espèces sont utilisées.

5. Les principaux domaines d'application :

Par leurs diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines.

5.1 Alimentation

Les vertus antiseptiques, et en même temps les propriétés aromatisantes des essences s'utilisent quotidiennement dans les préparations culinaires, et donnent aux condiments et aux aromates leurs saveurs.

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant de certaines essences permet la conservation des aliments en évitant les moisissures.

5.2 pharmacies

Beaucoup d'huiles essentielles ont des propriétés médicinales qui ont été utilisées en médecine traditionnelle depuis des temps très anciens et qui sont largement répandues ; par exemple :

- _ L'huile essentielle de menthe poivrée : utilisée contre les maux de tête.
- _ L'huile essentielle d'arbre à thé : est un antiseptique à large spectre.

- _ L'huile essentielle de clou de girofle : est un analgésique puissant, comme antiseptique, et pour un certain nombre d'usages médicaux. Les huiles essentielles ont un grand intérêt en pharmacie. Elles s'utilisent sous forme de préparations galénique et dans la préparation d'infusion. Aussi, elles s'emploient pour leurs propriétés aromatisants pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale. Plus de 40% des médicaments sont à base de composants actifs issus de plants. De nombreuses huiles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirops, gouttes, gélules...

5.3 Parfumerie et cosmétique

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces derniers une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums, du parfum âge des savons et des cosmétiques.

5.4 Aromathérapie

La pratique de l'aromathérapie tant que science de la santé était pratiquement tombée dans l'oubli jusqu'à ce qu'elle renaisse graduellement au cours du 16ème et 17ème siècle. Actuellement en Europe, l'aromathérapie (la science de l'application des huiles essentielles) est pratiquée et enseignée.

On notera la présence d'huile essentielle dans les préparations en baume, huile de corps, de bain calmant, relaxant, etc. Il faut signaler que les sportifs se traitent également par les essences.

6. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des médicaments. Elles sont toxiques à fortes doses et peuvent induire des troubles très graves (coma, cirrhose hépatique, épilepsie...). La toxicité des huiles

essentielles est assez mal connue. Il manque des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes et cancérogènes.

Certains constituants des huiles essentielles administrés à fortes doses comme les cétones provoquent des crises épileptiques et des effets secondaires tels que les nausées, céphalées...etc. Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

7. Les méthodes conventionnelles d'extraction :

7.1 Entraînement à la vapeur d'eau :

Il existe trois méthodes de distillation qui repose sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur saturée et l'hydro diffusion. La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Dorosso Sonate ; 2002**).

7.2 Hydrodistillation simple :

La méthode par hydrodistillation est traditionnellement la plus couramment utilisée (environ 80% des cas) car elle est la plus économique (**Kaloustian ;2012**) Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées Sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

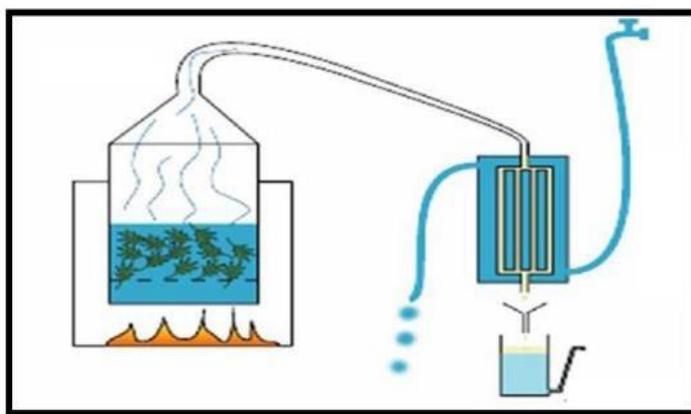


Figure 08 : l'hydrodistillation simple (**Abdelmounaim Khadir, 2016**)

7.3 Distillation à vapeur saturée :

L'entraînement à la vapeur d'eau pure est le procédé qui donne les meilleures garanties de qualité (Chouiteh ;2012).

Dans ce procédé, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées (Fekih ;2015). La vapeur fait éclater les cellules à essence. Les molécules aromatiques sont captées par la vapeur qui se charge de molécules volatiles. A la sortie de la cuve, la vapeur s'est combinée Aux huiles essentielles. La condensation et le refroidissement s'effectuent dans un serpentin. A la sortie du serpentin, un essencier recueille la vapeur refroidie et revenue à l'état d'eau et l'huile essentielle. La différence de densité entre les deux liquides facilite la séparation de cette dernière qui, A quelque exception près, est plus légère que l'eau (Chouiteh ;2012). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules Aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

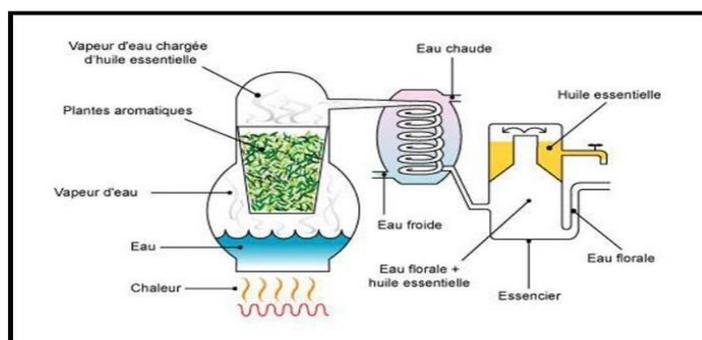


Figure 09 : distillation à vapeur saturée (Boutamani :2013)

7.4

Hydro

diffusion :

L'hydro diffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas (Fekih ;2015). La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. De plus, l'hydro diffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

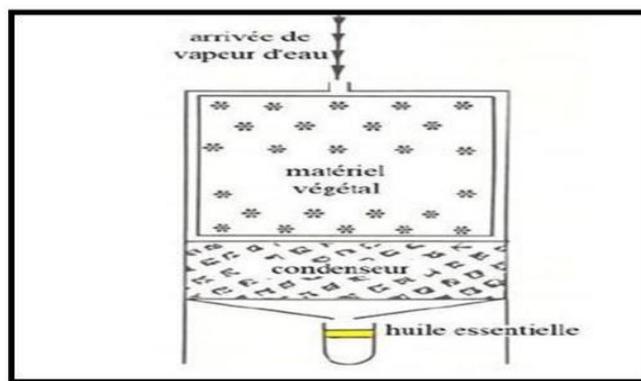


Figure 10 : l'hydro diffusion (Abdelmounaim Khadira :2016)

7.5 Expression mécanique à froid :

Ce mode d'obtention particulier est réalisé uniquement pour les fruits de la famille botanique des Rutacée (citron, orange, bergamote, mandarine, etc.). C'est une méthode simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches oléifères localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu (Abdelmounaim Khadir :2016). L'huile essentielle est séparée du jus de fruit par un procédé mécanique de décantation à froid.

De nos jours, l'expression mécanique reste le procédé le plus simple et le seul ne modifiant pas le produit obtenu. Ainsi, l'huile essentielle recueillie porte le nom d'essence.

Le produit obtenu ne subissant pas de modifications, les essences obtenues par extraction mécanique possèdent une activité thérapeutique nettement supérieure à celle des huiles essentielles produites par d'autres procédés. En effet, contrairement aux huiles essentielles uniquement constituées de molécules volatiles, les essences, quant à elles, renferment des composés non volatiles comme des flavonoïdes ou encore des stéroïdes (Lacoste ;2014).

7.6 Enfleurage :

Cette technique est l'un des plus anciens procédés, elle a été au départ utilisée par les égyptiens. Il semblerait que l'application majeure soit en parfumerie, et ne concerne que les fleurs fragiles, qui gardent l'odeur après la cueillette, mais dont l'hydro distillation risque de dégrader les molécules odorantes présentes. Cette technique consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé (Iserin ;2001).

Lorsque les fleurs sont peu fragiles à la chaleur (par exemple, les fleurs d'oranger, d'acacia, de mimosa), un enfleurage à chaud est réalisé vers 60-70°C, par leur infusion dans des graisses fondues ou des huiles. Cette méthode est plus rapide que celle à température ambiante (**Iserin.2001**).

7.7 Extraction par les solvants :

Cette forme d'extraction est couramment employée pour l'industrie des arômes, mais doit impérativement être proscrite pour un usage thérapeutique, excepté si le seul solvant est l'alcool pur (**Jorite ;2015**).

L'extraction proprement dite est généralement précédée d'une division de la drogue : contusion des organes frais, hachage des drogues herbacées, concassage des racines et rhizomes, réduction en copeaux des bois (**Wicht.2003**).

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne la concrète : mélange odorant de consistance pâteuse. L'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue (**Chabrier ;2010**).

Cette technique est utilisée avec les plantes dont l'extraction d'huiles essentielles grâce à l'hydrodistillation est inefficace : c'est le cas du jasmin, de certaines roses, du narcisse, du néroli du mimosa (**Jammaledine ;2010**).

8. Activité biologiques des huiles essentielles :

8.1. Activité antibactérienne :

Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles sont fortement liées à leur hydrophobie. Cette caractéristique leur permet de pénétrer les cellules microbiennes et d'y provoquer des altérations fonctionnelles et structurales, sachant que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (**Fahed, 2016**).

8.2 Activité antioxydant

La capacité antioxydant de l'huile volatile est étroitement lié à tout le contenu phénol (**Mehani, 2015**). L'activité antioxydante des phénols dépend de la disposition des groupes fonctionnels autour de la structure nucléaire, la configuration, la substitution et le nombre

total des groupes hydroxyles qui influencent considérablement les différents effets antioxydants des radicaux et la chélation des métaux (**Bouziid, 2018**).

8.3 Activité anti-inflammatoire

Les familles biochimiques à action anti-inflammatoire et/ou antalgique qui constituent les composés de différentes huiles essentielles sont : les Aldéhydes mon terpéniques, les Esters terpéniques, les Sesquiterpènes et les Monoterpènes, l'Eugénol (phénol aromatique), l'Eucalyptol (oxyde terpénique) ou 1,8 cinéole, Alcools terpéniques (Sesquiterpénols, Monoterpénols), les Cétones terpéniques, les Phénol méthyl éthers (**Bouziid,2018**).

8.4 Activité antifongique

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques, soit sous leur forme pure soit sous forme de dérivés des composés originaux pour une optimisation thérapeutique plus efficace et plus sûre. L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Candida albicans*, et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P. funiculosum* (**Bouziid, 2018**).

Chapitre II :

Matériel Et Méthodes

Partie I : Zone d'étude

1.Présentation de la zone d'étude

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

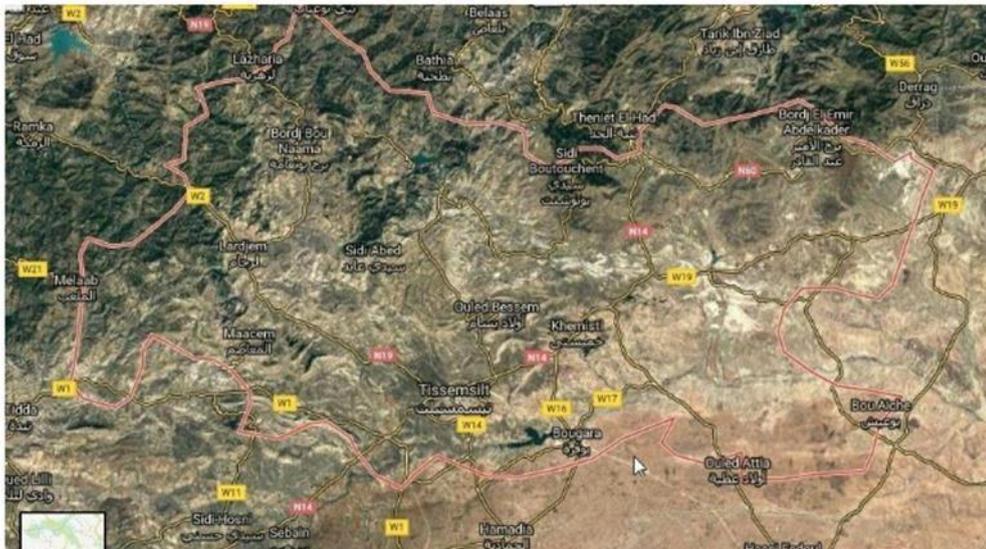


Figure 11 : Image satellitaire de La wilaya de Tissemsilt (Google Maps)

2. La topographie

C'est un état à vocation exclusivement agro-pastorale situé au cœur du haut plateau dans sa partie occidentale.

Le territoire de l'État est constitué de zones montagneuses, qui représentent 65% de la superficie totale de l'État, le reste est occupé par les hautes terres et dans une moindre mesure les steppes (ANDI, 2013). Ces terres sont réparties comme suit :

- Une zone montagneuse avec un taux de 65%.
- Une zone des hautes plaines avec un taux de 25%
- Une zone steppique occupant 10% de la superficie globale de la wilaya.

Le plus haut sommet a été dessiné à Sidi Ammar (Monts de l'Ouarsenis) avec une hauteur de 1983 m. Alors que le niveau le plus bas est enregistré à Koudiet El Yachine (au Nord d'El Azharia) avec environ 389 m d'altitude. (ANDI, 2013).

Tissemsilt abrite le Parc national de ThenietEl-Haâd, connu par sa forêt de cèdres.

En fait, la superficie forestière couvre 20% des terres de l'État (ANIREF, 2011)

3. Principaux indicateurs de la wilaya

- Superficie de la wilaya : 3151,37 Km².
- Superficie forestière : 460,71 Has (19 %).
- Population totale :299, 910 habitants dont 60 % de ruraux.
- Population active : 77,976habitants.
- Nombres des communes rurales : 16/22.

4.Situation géographique et administrative de la wilaya de Tissemsilt

La wilaya de Tissemsilt est située au Nord de l'équateur entre 30 et 32° de latitudes et 3° de longitude, est avec un décalage de 12 minutes par rapport au fuseau horaire universel.

Elle et s'étend sur une superficie de 3151,37 km² (ANDI, 2013)

Le Chef-lieu de la Wilaya est situé à 220 km à l'Ouest de la capitale, Alger, et à 300 km d'Oran, bornée par plusieurs wilayas (**Figure 12**) à savoir :

Au nord, par les wilayas d'Ain Defla et Chlef.

À l'est par la wilaya de Médéa.

À l'ouest, par la wilaya de Relizane.

Au sud, par la wilaya de Tiaret et Djelfa. (ANDI, 2013) (Figure 12).

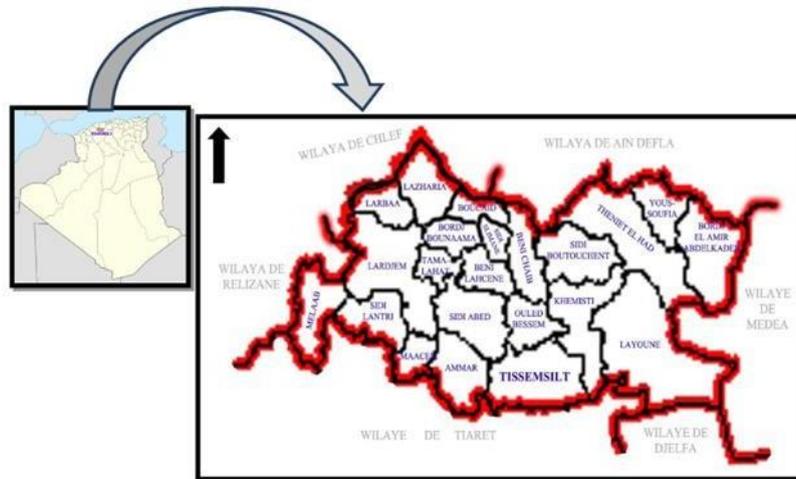


Figure 12 : Situation géographique de la wilaya de Tissemsilt (ANDI, 2013)

5. Facteurs climatiques

5.1 Pluviosité :

La pluviosité est le facteur primordial qui permet de déterminer le type de climat. En effet, elle conditionne le maintien et la répartition du tapis végétal. L'altitude, la longitude et la latitude sont les principaux gradients définissant la variation de la pluviosité. En effet, la quantité de pluie diminue du nord au sud, de l'est à l'ouest et devient importante au niveau des montagnes (Chaâbane,1993).

Nous avons évalué les relevés annuels pluviométriques de 1984 à 2018 afin de cerner les variations interannuelles. Cette approche a été complétée par une analyse des régimes saisonniers des diagrammes ombrothermiques et du climagramme d'Emberger (Q2).

5.1.1 Régimes pluviométriques

La connaissance de la moyenne annuelle de la pluie a un grand intérêt, mais pour compléter les études de la distribution de la pluie, il faut y ajouter celle du régime pluviométrique, donc la manière dont cette quantité totale de pluie se répartit entre les différentes saisons (Angot, 1916).

Le rythme des précipitations est important puisque l'existence d'une période de sécheresse estivale est le facteur écologique majeur, permettant d'expliquer les caractères particuliers des

forêts méditerranéennes et la mise en place d'un nombre très élevé de types forestiers (Quézel et Medail, 2003a).

5.1.2 Régimes annuels

La moyenne pluviométrique annuelle calculée au cours de cette période (1984 à 2018) est de 350, les valeurs de la pluviométrie pendant ces années ont oscillé entre un minimum de 162,6mm enregistré en 1999 et un maximum de 662mm en 2013 (Fig. 13). Les années les plus arrosées sont : 1997, 2003, 2004, 2006, 2007, 2009, 2010, 2013, et 2018 où la pluviométrie a dépassé les 400 mm. Les années les plus sèches sont 1985 et 1999 où la pluviométrie n'a pas dépassé 170 mm..

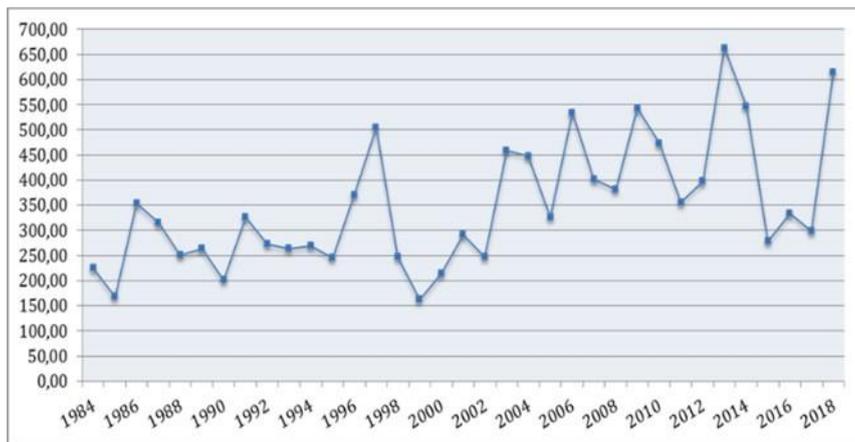


Figure 13 : Evolution des précipitations annuelles (1984-2018)

Nous constatons que la dernière décennie (2004-2018) a été plus pluvieuse que les antécédents en termes de moyennes des cumuls pluviométriques

5.1.3 Régimes mensuels

L'analyse des données pluviométriques moyennes mensuelles permet de mieux approcher la distribution des quantités d'eau enregistrées pour tous les mois de l'année. Le régime de la précipitation mensuelle (Fig. 14) montre :

- Le mois de novembre a été le plus pluvieux.
- Juillet a été le mois le plus sec.

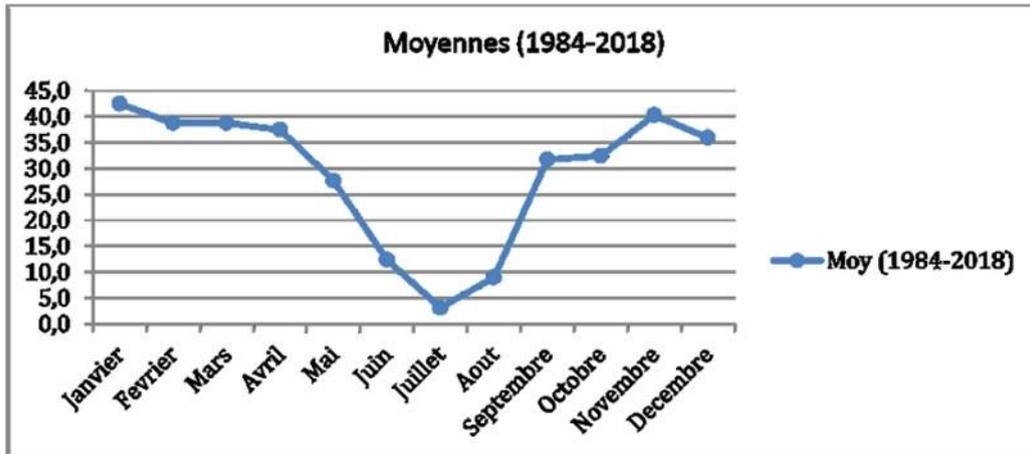


Figure 14: Moyennes des précipitations mensuelles de la période (1984-2018)

Nous remarquons que la période sèche de la période 1984-2018 coïncide avec la saison estivale et se concentre toujours autour des mois de juillet et août.

5.2 Températures

La température est un facteur écologique fondamental et un élément vital pour les êtres vivants, le facteur climatique a été défini par Péguy (1970) comme une qualité de l'atmosphère et non une grandeur physique mesurable. L'une de nos préoccupations est de montrer l'importance des fluctuations thermiques dans l'installation et l'adaptation des espèces dans la région.

La caractérisation de la température en un lieu donné se fait généralement à partir de la connaissance des variables suivantes :

- Température moyenne mensuelle « T ».
- Température maximale « M ».
- Température minimale « m ».

5.2.1 Températures moyennes mensuelles

Les moyennes mensuelles ou trimestrielles sont fréquemment utilisées par les climatologues et fournissent des résultats plus significatifs (Quézel et Médail, 2003-b). Les moyennes mensuelles des températures confirment que janvier est le mois le plus froid pour la période étudiée (5,8° C en moyenne). Les températures moyennes les plus élevées se situent au mois de juillet avec une moyenne 26,7°C (Fig,15).

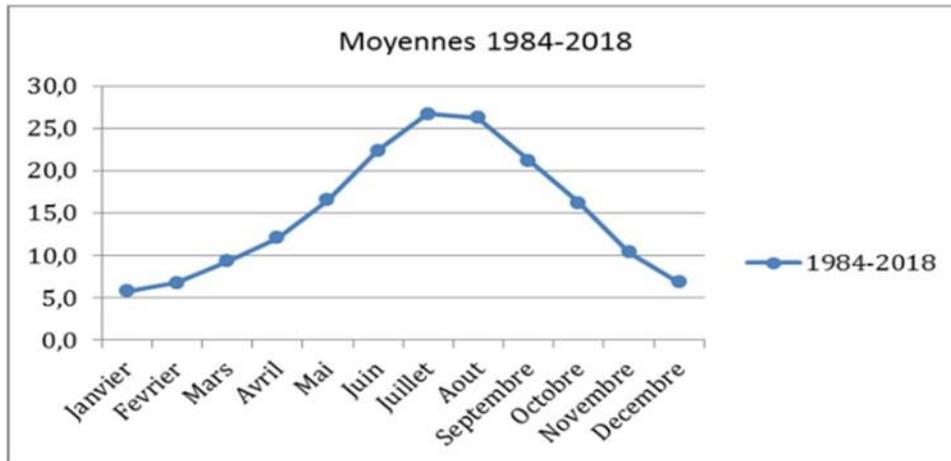


Figure 15 : Variation des moyennes mensuelles des températures de la période (1984-2018)

5.2.2 Températures moyennes des maxima du mois le plus chaud « M »

La moyenne des températures maximales du mois le plus chaud « M » représente aussi un facteur limitant pour certaines espèces. Pour notre station ces températures sont assez élevées durant la saison sèche ; 35,03°C au mois de juillet.

5.2.3 Températures moyennes des minima du mois le plus froid « m »

Dans la classification du climat, Emberger utilise la moyenne des minima du mois le plus froid « m » qui exprime le degré et la durée de la période critique des gelées. L'examen des températures nous a permis de signaler que le mois le plus rigoureux est celui de janvier. La moyenne des températures minimales de 1,06°C .

6. Synthèse bioclimatique

La synthèse climatique est une étape indispensable pour tout projet relatif à l'environnement. Les phénomènes climatiques concernés sont la température et la pluviosité. L'estimation de ces paramètres permet d'aboutir à une interprétation efficace des indices, d'où l'intérêt de ces derniers dans la détermination du type de climat. Avant de procéder aux calculs des indices, nous avons fait appel à d'autres classifications climatiques.

7. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gausсен

L'analyse du diagramme permet de visualiser une période pluvieuse qui s'étend généralement d'octobre à fin avril et une période sèche qui s'étend sur 6 à 7 mois pour le reste de l'année. Toutefois, les mois de juin, juillet et août demeurent les mois les plus secs pour la région d'étude (**Fig. 16**)

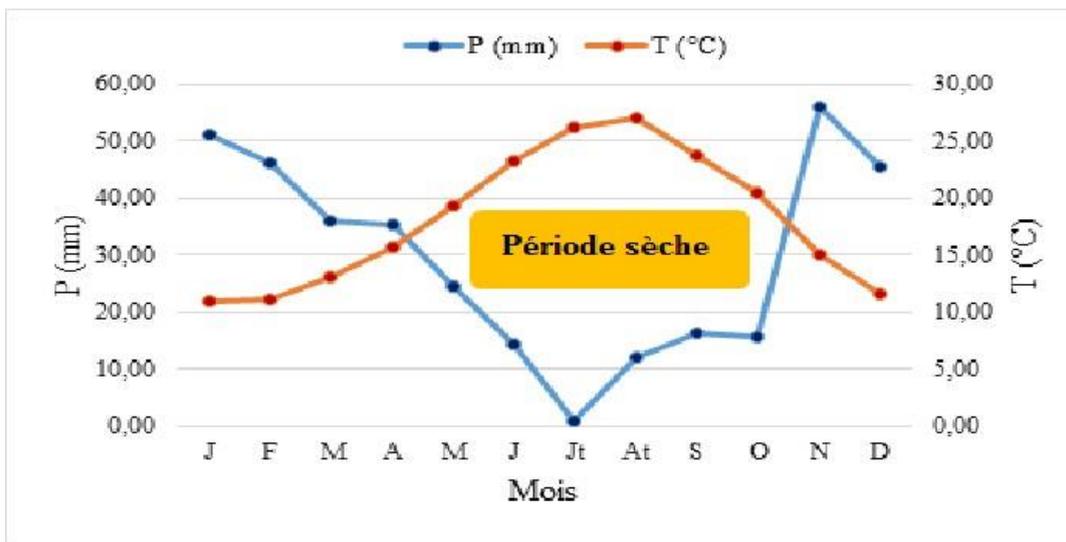


Figure 16 : diagramme ombrothermique de BAGNOULS et GAUSSEN de Tissemsilt

8. La population de la commune de TISSEMSILT

8.1 La démographie

La municipalité de Tissemsilt comptait environ 90 141 habitants en 2017. Elle est passée de 294 476 en 2008 à 300 000 en 2017 dans tout l'État.

La population de moins de 15 ans, représentant 29 % de la population totale, constituera une ressource humaine importante dans les années à venir. (**ANDI.2013**)

Partie II : Partie expérimentale

1. Matériels et Méthodes

Notre travail est basé sur les étapes suivantes

1. L'extraction de l'huile essentielle
2. Isolement et identification de champignon *Ascospheara apis*.
3. Evaluation de l'activité antifongique d'antifongique de l'huile essentielle
4. Taux d'inhibition
5. Analyses statistiques

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Les feuilles fraîches d'*Ammoides verticillata* ont été récoltées de la willaya de Tlemcen et l'identification de l'espèce a été faite au niveau de laboratoire du département des sciences de la nature et de la vie (Faculté des sciences et de la technologie) de l'université de Tissemsilt. L'huile essentielle des feuilles d'*Ammoides verticillata* a été extraite à l'aide d'un appareillage de type Clevenger.

1.1.2 Matériel fongique

Il a été constitué de mycéliums de *l'Ascospheara apis*. Isolés à partir des abeilles domestiques atteints d'ascosphérose. Nous avons choisi cette espèce fongique, car elle est parmi les espèces les plus dangereuses qui attaquent les colonies d'abeille provoquant des problèmes majeurs.

2.L'extraction de l'huile essentielle

Une quantité de 80 g de matière végétale est transvasée dans un ballon de 1 litre auquel un volume de 800 ml d'eau distillée est ajouté et l'hydro distillation se fait pendant 3 heures. L'eau est portée à ébullition, la vapeur d'eau chargée d'huiles essentielles passe ensuite dans un condenseur, où elle est refroidie pour se condenser. Cela sépare l'eau de l'huile essentielle. L'huile essentielle, étant moins dense que l'eau, flotte à la surface de l'eau condensée. Elle peut être collectée à l'aide d'une pipette. (Clevenger,1928)

Une fois collectée, l'huile essentielle peut être filtrée pour éliminer les impuretés éventuelles. Elle doit ensuite être stockée dans des flacons en verre teinté, hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière et de la chaleur. (Figure,17)



Figure 17 : Montage d'hydrodistillation type Clevenger (originale)

3. Isolement du champignon

Nous avons récolté des larves des abeilles (*Apis mellifera*) infectés par l'ascosphérose de la région de Tissemsilt.

L'échantillonnage des abeilles infectés a été fait avec une manière subjective (non probabiliste).

L'ensemencement a été réalisé dans des boîtes de Pétri contenant un milieu SDA Sabouraud. Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 5 à 7 jours.

Des colonies caractéristiques de *l'Ascospheera apis*. Ont été isolées et conservées pour une éventuelle identification.

3.1 Purification

Les colonies précédemment isolées ont été repiquées successivement jusqu'à l'obtention de colonies pures.



Figure 18 : Purification de l'*Ascosphaera apis* (originale)

4. Identification

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

4.1. Identification des moisissures

L'identification des isolats fongiques est basée sur des études macroscopiques et microscopiques (**Rappily, 1968**), en se référant aux guides d'identification des champignons de (**Barnett et Hunter, 1972**) et (**Rieuf, 1985**). Les caractères macroscopiques sont les suivants : texture et couleur du thalle, couleur du revers de la boîte de pétri, présence d'un pigment diffusible et l'odeur.

Les caractères microscopiques ont été observés grâce à la méthode de micro culture de Harris, (1989) :

Afin de prélever des spores et des filaments mycéliens de la souche fongique à identifier, un morceau de papier adhésif (scotch) a été mis sur la culture puis déposé sur une lame contenant une goutte de bleu coton qui a permis de gonfler les filaments du mycélium et donner une meilleure observation (**Fig.19**).

L'observation microscopique a permis la visualisation de la forme du mycélium et les spores caractéristiques des champignons pathogènes.

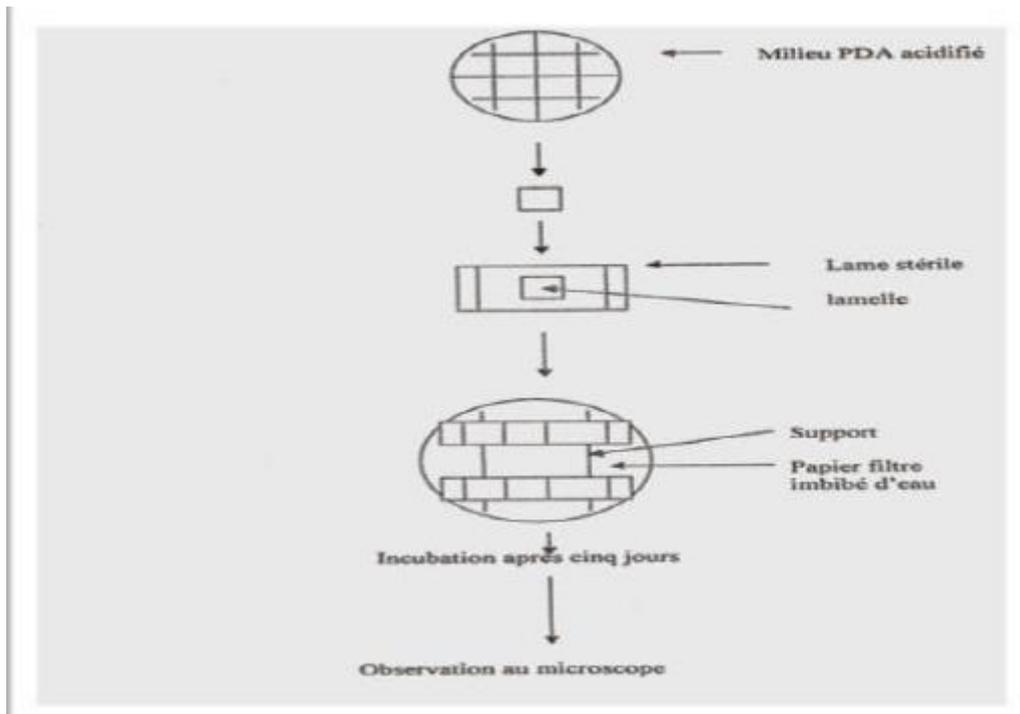


Figure 19 : Technique de micro culture (Harris, 1989)

4.2 Conservation

Nous avons conservé les échantillons de *l'Ascospheara apis* dans un endroit frais (réfrigérateur) à une température d'environ 4 °C.

5.Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle

5.1Méthode de contact direct

L'activité antifongique des différentes doses de notre plante sur la croissance mycélienne du champignon pathogène des abeilles domestiques *de l'Ascospheara apis* a été évaluée par la méthode de contact direct en milieu solide SDA.

Nous avons mélangé le milieu de culture (SDA) avec différentes concentrations de l'huile essentielle (0.5 ,1, 1.5, 2,2. 5,3 ul).

Nous avons mélangé une quantité de 30 ml de SDA avec chaque concentration.

Des disques de 5 mm de diamètre du champignon de *l'Ascospheara apis* a été déposé aseptiquement au centre de chaque boîte de Pétri coulées préalablement par la gélose SDA et l'extrait à tester.

Les boîtes de pétri sont ensuite incubées à 27 °C pendant 7 jours. En parallèle, des témoins de l'expérience ont été préparés. Un milieu de culture *SDA* et un disque de champignon est utilisée comme un témoin positif.



Figure 20 : Méthode de contact direct(original)

5.2 Préparation des dilutions :

Afin d'étudier plus l'activité antifongique de l'huile essentielle préalablement extrait, nous avons procédé à la réalisation d'une série de dilutions décimales à l'aide d'un solvant miscible avec notre huile essentielle qui est le DMSO, un solvant polaire organosulfuré qui dissout à la fois des composés polaires et non-polaires.

Les dilutions préalablement préparées ont été rajoutées à 20 ml de la solution *SDA* ce qui nous a permis d'obtenir les concentrations suivantes :
(0.5%.0.05%.0.005%.0.0005%.0.00005%).

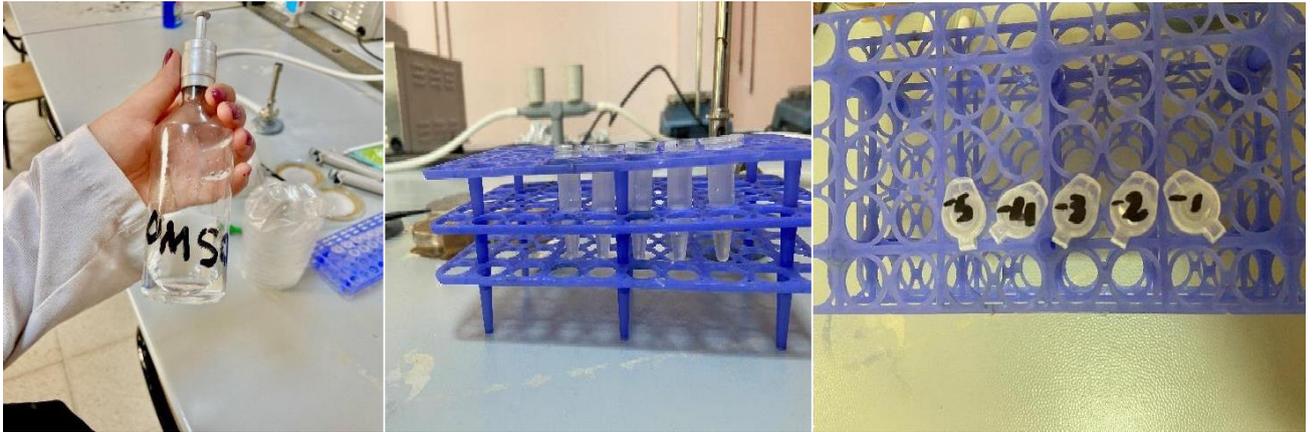


Figure 21 : Préparation des dilutions(original)

5.3 Ensemencement du champignon

Un disque mycélien de 6 mm de diamètre est prélevé sur le front de croissance d'une culture vieille de 3 à 4 jours et placé au centre des boîtes de Pétri préparées précédemment. Incubée à 27°C, la croissance mycélienne a été suivie en mesurant chaque jour à la même heure deux diamètres perpendiculaires tracés au revers des boîtes de Pétri au niveau des explants pendant 7 jours en effectuant la moyenne de ces 2 diamètres diminuée de celui de l'explant.

5.4 L'Incubation

Les boîtes de Pétri sont incubées pendant 5 jours à 27°C, 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 dose d'huiles essentielles et les résultats expérimentaux sont exprimés selon diamètres des développements du champignon d'*Ascospaera apis*



Figure 22 : incubation les boites de pétri dans une étuve à 27°C (**Photo originale**)

5.6 La lecture

L'activité antifongique des extraits a été évaluée en calculant le pourcentage d'inhibition suivant la formule :

$$I\% = \frac{Dt - Dx}{Dt} \times 100$$

$I\%$: pourcentage d'inhibition.

Dt : diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte témoin.

Dx : diamètre moyen de croissance du champignon dans la boîte test.

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 effectuées sur les axes X et Y (**figure 23**), puis le pourcentage moyen d'inhibition de la croissance de champignon a été estimé.

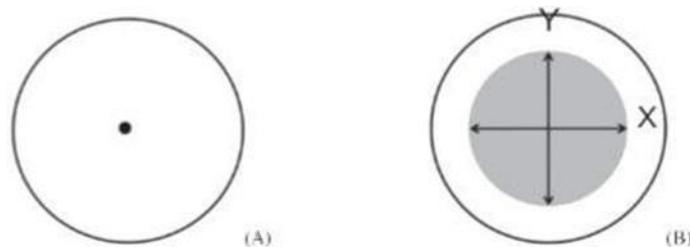


Figure 23 : la représentation de l'efficacité des vapeurs d'extraits de plantes dans l'inhibition de la croissance mycélienne du champignon (*Ascosphaera apis.*) sur le milieu. A : caractéristique de la mise en place du champignon sur le milieu, B: évaluation de la croissance

fongique sur le milieu (Krutmuang et al, 2020).

5.7 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 (%).

6. Analyses statistiques

Une expérience biologique est une action, au moins partiellement contrôlée, sur tout ou une partie d'un matériel vivant, dont le résultat, décrit en terme quantitatif ou numérique, fait l'objet d'une interprétation (Lellouche et Lazar, 1974). Les méthodes utilisées dans ce travail s'appuient sur l'analyse de la variance (ANOVA) (analyse of variance), test de Tukey Kramer (HSD), test de Duncan (test de comparaisons multiples) et les concentrations létales (CL 90 et 50). La mortalité a été calculée en regroupant le nombre des individus à chaque réplification (Dagnélie, 1975). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SPSS.

Puis nous avons présenté nos résultats avec des graphes a cause du test ANOVA non significatif.

Chapitre III :

Résultats Et Discussion

I. Résultats

1. Examen macroscopique et microscopique de l'*Ascosphaera apis*

1.1 Examen macroscopique

L'examen macroscopique est basé sur l'observation de l'aspect du champignon dans une zone bien éclairée, en vérifiant l'uniformité des colonies. Les colonies de *Ascosphaera apis*. Sont blanches et denses, variant en diamètre de 5 cm à 8 cm.



Figure 24 : Aspect macroscopique de l'*Ascosphaera apis* (originale)

1.2 Examen microscopique

Cet examen, porte sur l'observation de la morphologie des spores, leur taille, et surtout la façon dont elles se fixent sur les filaments (séparation en ramifications, présence de produits phialides, etc.). Les hyphes ont des septas, qui fluctuent entre 2,5 μm et 8 μm de diamètre, présentant une bi-ramification distincte. Les fructifications sont des kystes de spores sphériques (sporoblastes ou ascoma), variant entre 47 μm et 140 μm .

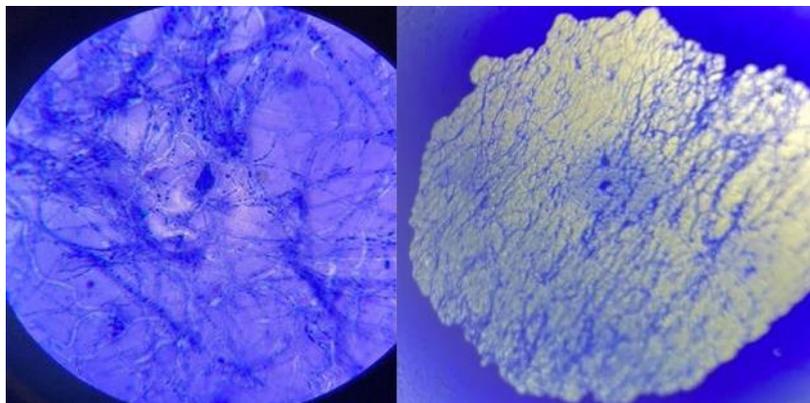


Figure 25: Aspect microscopique de l'*Ascosphaera apis* (Originale)

2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite

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

Tableau 03 : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*

Propriétés	Huiles essentielles
Photo	
Couleur	Jaune clair
Aspect	Liquide
Odeur	Aromatique

2.1 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

Dans cette partie, nous avons testé l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'*Ammoides verticillata* sur champignons parasite des abeilles domestiques (*Ascospheara apis*). Le taux d'inhibition de l'*Ascospheara apis* par l'huile essentielle de l'*Ammoides verticillata* n'a aucune signification en fonction des doses ($P=0,4494$, respectivement) (Tab.04), Et cela à cause de l'efficacité importante de l'huile essentielles sur les champignons. Ces résultats nécessitent une étude profonde avec l'application de plusieurs doses et dilutions pour avoir des bons résultats

Tableau 04 : test ANOVA pour l'inhibition du champignon (*Ascospheara apis*) avec l'huile essentielle de l'*Ammoides verticillata*

Source	Carré moyen	DDL	ANOVA SS	F	Pr > F
Doses	14313	27	530,112	1,051	0,4494

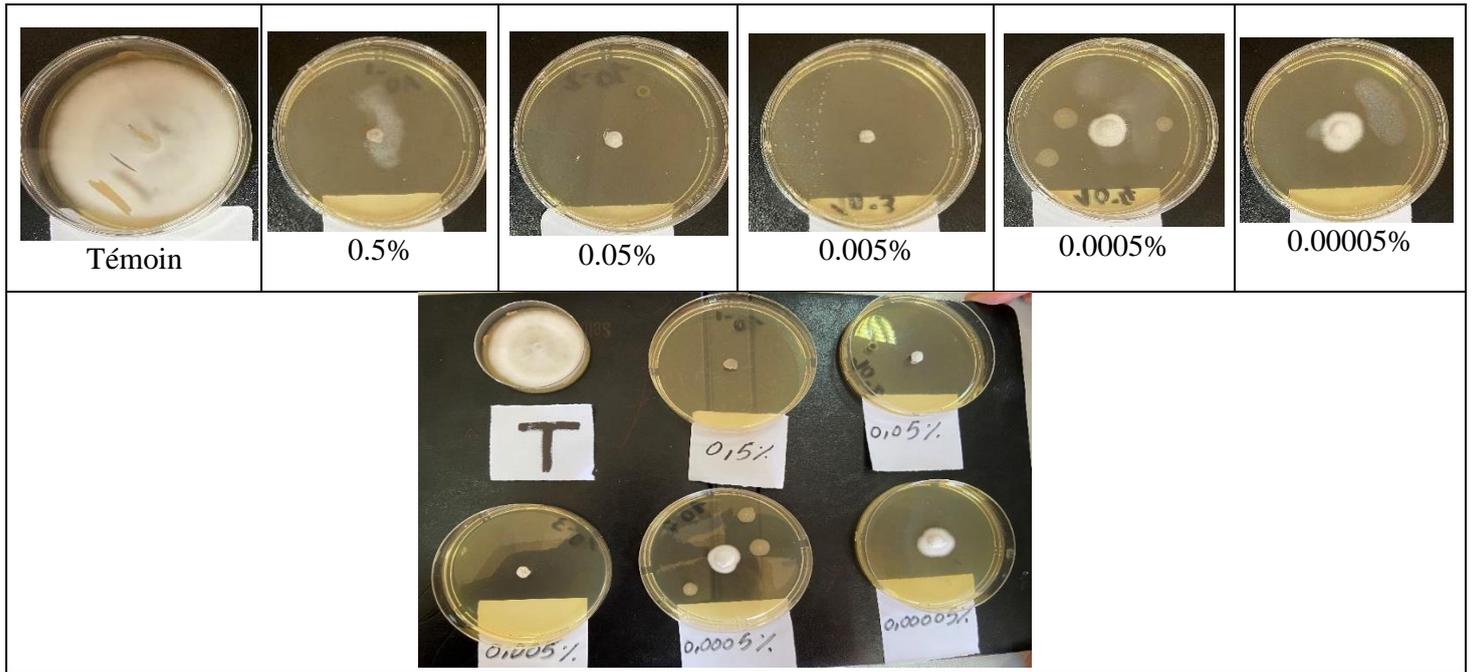


Figure 26 : L'activité antifongique l'huile essentielle de *l'Ammoides verticillata* contre *Ascosphaera apis*

2.2 Taux d'inhibition de l'Ascosphaera apis par l'huile essentielle de l'Ammoides verticillata

La souche témoin ne marque aucune inhibition, nous avons constaté l'augmentation de l'inhibition à partir de la dose 0,00005% avec 48,79 %. La dose 0,0005% a donné un taux d'inhibition avec 72,28%. La dose 0,005% marque un taux d'inhibition de 76,1%, nous avons remarqué un taux d'inhibition de 90,96% pour la concentration 0,05%. Le taux d'inhibition atteint son maximum de 100% à partir de la concentration concentrations 0,5 % (Fig.27).

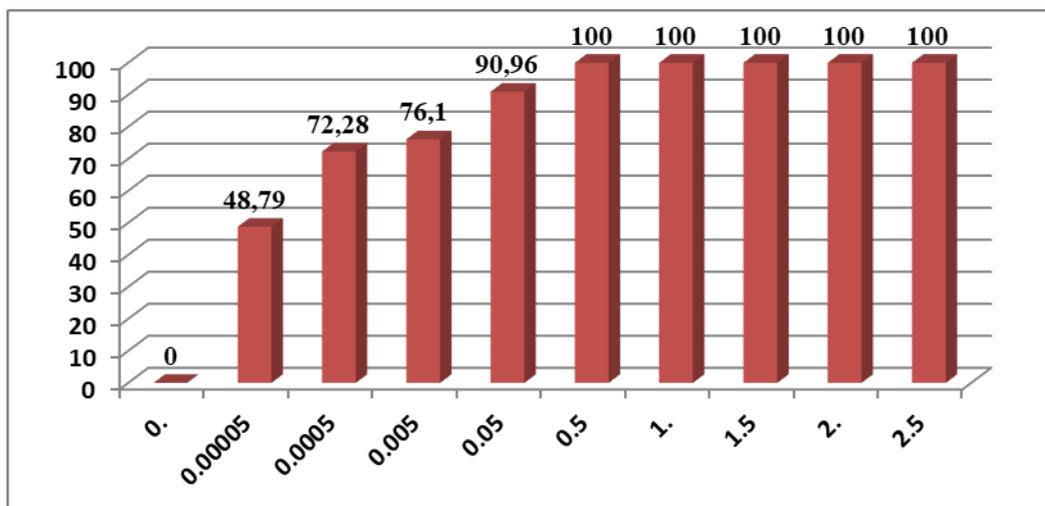


Figure 27 : Taux d'inhibition de l'Ascosphaera apis par l'huile essentielle de *l'Ammoides verticillata*

3. Taux de la croissance mycélienne de l'*Ascospheera apis* après l'utilisation de l'huile essentielle de *l'Ammoides verticillata*

Nous avons observé le Taux de la croissance mycélienne de *l'Ascospheera apis* de la souche témoin atteint 85,05%, pour la concentration 0,00005% nous avons remarqué un Taux de croissance de 22,3%. Le graphe marque un taux de croissance de 6,53% pour la concentration 0,0005%, nous avons remarqué aussi un taux de croissance de 4,85% pour la concentration 0,005%, pour la concentration 0,05% le taux de croissance atteint 0,69, le taux de croissance est devenu nul à partir de la concentration 0,5% (**Fig.28**).

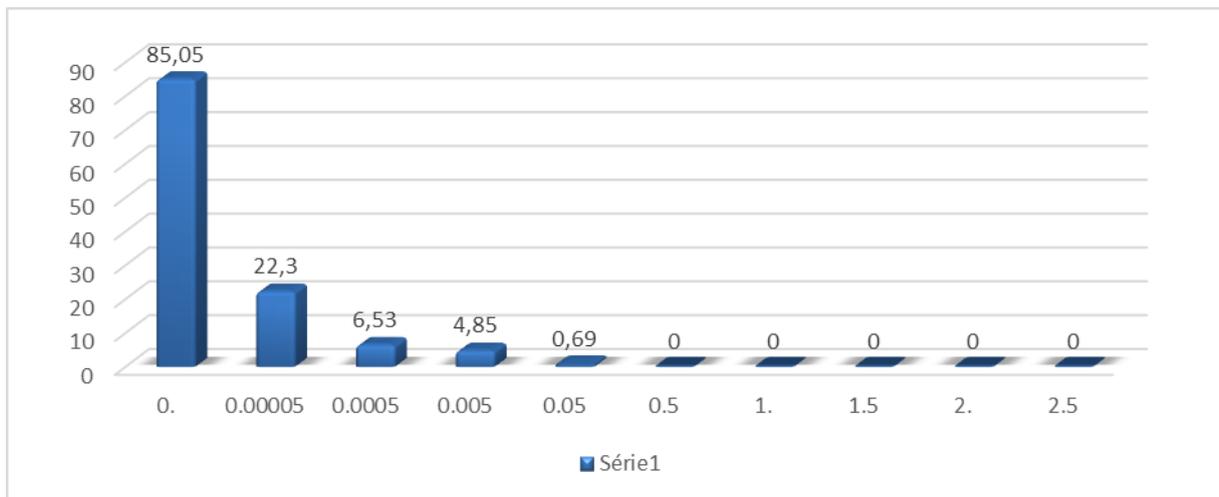


Figure 28 : Taux de la croissance mycélienne de l'*Ascospheera apis* après l'exposition à l'huile essentielle de *l'Ammoides verticillata*

II. Discussion

L'observation de la morphologie a montré que les hyphes ont des septas, qui fluctuent entre 2,5 µm et 8 µm de diamètre, présentant une bi-ramification distincte. Les fructifications sont des kystes de spores sphériques (sporoblastes ou ascoma), variant entre 47 µm et 140 µm.

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

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 (Larek et Hafed ,2022)

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

Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible.

Dans notre étude, les résultats ont montré une diminution très importante du développement du champignon *Ascospheera apis* à mesure que la concentration des extraits d'huiles essentielles augmentait dans les tubes expérimentaux. Cette diminution était observée pour toutes les concentrations testées, et le taux d'inhibition de la croissance fongique augmentait également avec l'augmentation de la concentration des extraits, Nous avons observé l'augmentation de l'inhibition à partir de la dose 0,00005% avec 48,79 % pour donner leur maximum de 100% à partir de la concentration concentrations 0,5 %.

D'après (Senouci, H et al, 2020) l'huile essentielle d'*A. Verticillata* a été caractérisée principalement par le carvacrol (44,3%), le limonène (19,3%) et le p-cymène (19,2%).

Le résultat de l'activité antifongique in vitro de l'huile essentielle a montré une inhibition antifongique intéressante contre les souches *Alternaria alternata* et *Fusarium solani* avec un pourcentage d'inhibition de 89%.

De plus, l'huile d'*A. Verticillata* a démontré une activité antifongique in vivo prometteuse pour contrôler les infections des abeilles causées par l'*Ascospheera apis*. La plupart des propriétés antifongiques des huiles essentielles sont dues à la présence de terpénoïdes, en particulier de terpènes phénoliques, de phényl propanoïdes et d'alcools. Une corrélation entre l'efficacité des antifongiques obtenus dans les huiles essentielles et leur composition chimique suggère que cette activité peut être attribuée à la présence de forte concentration relativement élevée de composés bioactives.

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

Les propriétés antifongiques de nos huiles essentielles peuvent être liées à leurs profils chimiques, en particulier au pourcentage relativement élevé de monoterpènes tels que le p-cymène, le limonène (**senouci, 2020**).

Les phénylpropènes tels que le p-cymène et le carvacrol sont les principaux composés de nombreuses huiles essentielles de plantes et de nombreuses preuves ont suggéré que ces composants possèdent des activités antibactériennes et antifongiques (**Kaluderović et al. (2015) ; Păunescu et al. (2015)**).

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

Conclusion

Les huiles essentielles *d'Ammodendron Verticillata* ont démontré une activité antifongique prometteuse contre le champignon pathogène des abeilles domestiques, *Ascosphaera apis*. Les résultats de cette étude mettent en évidence le potentiel des huiles essentielles en tant qu'alternative naturelle et efficace pour lutter contre les infections fongiques chez les abeilles. L'activité antifongique des huiles essentielles peut être attribuée à leur composition chimique complexe, qui comprend divers composés bioactifs tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénols. Ces composés ont démontré des propriétés antifongiques significatives, inhibant la croissance et la prolifération du champignon pathogène tout en préservant la santé des abeilles.

Les résultats obtenus ont montré une diminution progressive du développement des champignons à mesure que la concentration des extraits augmentait dans les tubes expérimentaux. Cette diminution était observée pour toutes les concentrations testées, avec un taux d'inhibition croissant. À une concentration de 0,5%, les huiles essentielles ont été capables d'inhiber complètement la croissance fongique.

L'utilisation d'huiles essentielles *d'Ammodendron Verticillata* pourrait donc contribuer à la protection des colonies d'abeilles domestiques contre l'infection par *Ascosphaera apis*, permettant ainsi de maintenir la vitalité des populations d'abeilles. Cela revêt une importance capitale, car les abeilles jouent un rôle essentiel dans la pollinisation des plantes et dans la préservation de l'écosystème.

Cependant, il convient de souligner qu'une recherche plus approfondie est nécessaire pour évaluer pleinement l'efficacité des huiles essentielles *d'Ammodendron Verticillata* et leur innocuité pour les abeilles et leur environnement. Des études supplémentaires devraient également être entreprises pour comprendre les mécanismes d'action spécifiques des composés actifs des huiles essentielles sur *Ascosphaera apis*. Ces travaux de recherche pourraient aider à développer des applications pratiques et durables de l'utilisation des huiles essentielles dans la protection des abeilles contre les infections fongiques.

En définitive, les huiles essentielles *d'Ammodendron Verticillata* représentent une piste prometteuse pour combattre les infections fongiques chez les abeilles domestiques, offrant une alternative naturelle aux traitements chimiques souvent utilisés. Leurs propriétés

Conclusion

antifongiques, associées à leur origine naturelle, pourraient contribuer à préserver la santé des colonies d'abeilles et à soutenir la biodiversité en assurant la pérennité des pollinisateurs essentiels. Cependant, davantage de recherches sont nécessaires pour confirmer et approfondir ces résultats, ainsi que pour évaluer l'efficacité et la sécurité à long terme de l'utilisation des huiles essentielles dans le contexte apicole.

Références bibliographiques

Abdelli W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3ème cycle LMD, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, 178 p.

Abdelmounaim Khadir(2016)., Mansour Sobeh, Haidy A. Gad, Fethi Benbelaid, Mourad Bendahou, Herbenya Peixoto, Frank Sporer, Mohamed L. Ashour and Michael Wink, Chemical composition and biological activity of the essential oil from *Thymus lanceolatus*, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 71(5-6):155-163,

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.

Alonso, J. M., Rey, J., Puerta, F., de Mendoza, J. H., de Mendoza, M. H., & Flores, J. M. (1993).Enzymatic equipment of *Ascosphaera apis* and the development of infection by this fungus in *Apis mellifera*. *Apidologie*, 24(4), 383-390

-Aronstein K., Murray K. Chalkbrood disease in honey bee. Journal of Invertebrate Pathology 103: 520-529 (2010). 34) -Aronstein, K. et K. Murray (2010). "Chalkbrood disease in honey bees." *Journal of invertebrate pathology*

Aronstein, K. A., Murray, K. D., &Saldivar, E. (2010).Transcriptional responses in honey bee larvae infected with chalkbrood fungus. *BMC genomics*, 11(1), 1-12.

Bailey, L. (1964). The 'Isle of Wight disease': the origin and significance of the myth. *Bee World*, 45(1), 32-37.

Ball, B. V. (1997). Secondary infections and diseases associated with *Varroa jacobsoni*. The varroosis in the Mediterranean region, 21, 49-58.

Baytop T. et Sultupinar N. (1998) .Characteristics of « Nanhan » cultivated in Anatolia and its volatile oil.*J. Fac. Pharm. Istanbul*, 22 :73-76

Baytop T., Sütlüpinar N.,(1986) Characteristics of « Nanahan» cultivated in Anatolia and its volatile oil. *J. Fac. Pharm. Istanbul*. 22, 73-76.

Benayed N (2008) :les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaire stockées; projet de recherche

Références bibliographiques

université Mohamed v.Agdal laboratoire des substances naturelles et thermolyse .clair
département de chimie faculté des sciences de Rabat p .64.

BIRI M. (2002) - Le grand livre des abeilles. Cours d'apiculture moderne. PARIS: VECCHI.

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

Boutamani.M, (2013) Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger,

Bouzid D. 2018. Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 105 p

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

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.

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

Chabrier. J-Y(2010), *Plantes Médicinales et Formes d'utilisation en phytothérapie*, Thèse, UniversitéHenri Poincaré-Nancy,.

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

CHAUVIN R., 1968 - *Traité de biologie de l'abeille*. Ed. Masson et cie, Paris, 372 p.

Chouiteh .O, (2012) *Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles desfeuilles de Glycyrrhiza glabra* [thèse] Oran : Université d'Oran,

CHRISTINE. (2011) - Société Royale d'Apiculture de Bruxelles et ses Environs (SRABE) a.s.b.l. Récupéré sur apiculture-wallonie: www.api-bxl.be

Références bibliographiques

Dorosso Sonate. J,Composition (2002).chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation, Mémoire de master, Université Ouagadougou,

Fahed L. 2016. Diversité chimique et potentiel antimicrobien d'huiles essentielles de plantes libanaises. Thèse de doctorat, Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS, Ecole Doctorale Sciences de la Nature et de l'Homme – ED 227, Français, 173 p.

Fekih.N, (2015) Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre Pinus poussant en Algérie [thèse].Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid.

-Felidj M., Bouazza M., Ferouani T., 2010. - Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila* (verticillata) dans le Parc national des Monts de Tlemcen Figueredo G. 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de doctorat en Chimie organique, Université Blaise Pascal- Clermont-Ferrand II, Français, 194 p (gérie occidentale).Rev, Geo-Eco-Trop., 2010, 34

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

Gilles A., (2010), La biologie de l'abeille. Ecole d'apiculture sud- Luxembourg.26 p

HACCOUR A., 1961 - Recherches sur l'abeille saharienne au Maroc. Communication à la Société des Sciences naturelles et physiques du Maroc. Belg. Apic.,25 (2)

Hadid, M. (2002). Architectural styles survey in Palestinian territories. Energy Codes for Building (www. molg. pna. ps)

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

Hugo Simon QUAEGEBEUR.(2019) . Doctorat vétérinaire. LE COMPORTEMENT HYGIÉNIQUE CHEZ L'ABEILLE MELLIFÈRE (*APIS MELLIFERA*)

Iserin.P, Encyclopédie des plantes médicinales, livre, 2ème édition, Paris : Larousse, 2001.

Références bibliographiques

James, R. R., & Pitts-Singer, T. L. (2008).The problem of disease when domesticating bees. Bee pollination in agricultural ecosystems.

Jammaledine. M, Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas, Mémoire, Université sidi Mohammed ben Abdellah. Fès, **2010**.

Jorite.S, La phytothérapie, une discipline entre passé et future : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel, Thèse, Bordeaux, Université de Bordeaux ,**2015**

Kaloustian.J, hadji-minaglo .F, La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie, livre, Edition Springer, Paris, **2012**

-Kambouche N. et El-Abed D.(2003)Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.)Spargue from Oran (Algeria). *J. of essential oil research*,15 :10-11.

Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F. et Bahramifar N.(2004). Comparison of essential oil comparison of *Carum Copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food chemistry*, 86 : 587 :591.

Lacoste. S, Ma bible de la phytothérapie, magazine, Edition : Quotidien Malin, **2014**.

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.

M'henni .2013. Abeille maghrébine (Tellienne)

Madi A. (2010) : caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de magister. université de Mentouri Constantine

Medina-Flores, C. A., Medina, L. A. M., & Guzmán-Novoa, E. (2022). Effect of hygienic behavior on resistance to chalkbrood disease (*Ascosphaera apis*) in Africanized bee colonies (*Apis mellifera*). *Rev Mex Cienc Pecu*, 13(1), 225-239.

MICHEZ D. (2002) – Monographie systématique, biogéographique et écologique des Lelittidae (Hymenoptera, Apoidea) de l'Ancien Monde. Première données et premières analyses. DEA en Sciences agronomique. Faculté Sciences Agronomiques. Gembloux. 161 pp

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

PAYETTE A. (2004) – Biodiversité et conservation des abeilles dans les bleuets. Ed. Insectarium de Montréal. 9p

Quezel P. et Santa S.(1963) . Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed centre national de la recherche scientifique. 663 p

RAVAZZI. G., 2003 - Abeilles et apiculteurs. Ed. De Vecchi, Paris, 155 p

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

Spiltoir, C. F., & Olive, L. S. (1955). A reclassification of the genus *Pericystis* Betts. Mycologia, 47(2), 238-244.

-**STACE P., 1994** - Chalkbrood – learning to live with it. The Australasian Beekeeper,95: 319 - 322.

-**TABER S., 1986** - Breeding bees with resistance to chalkbrood disease. Am. Bee. J.,126: 823 – 825

VAISSIERE B. (2002) – Abeilles et pollinisation. Le courrier de la nature 196, Spécial Abeilles : 24-27.

VELETROP O. (2000) – Effects of fragmentation on pollen and gene flow in insect-pollinated plant population. Thèse de doctorat. Rijkuniversiteit Groningen, 156 pp.

Wicht. M, Anton. R.Plantes thérapeutiques. Tradition pratique officinales, science et thérapeutique, livre, 2ème édition. Paris, **2003**

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

ملخص

يعتبر داء الأسكوسفير من أخطر الأمراض التي تصيب نحل العسل (*Apis mellifera*) مما يؤدي إلى انخفاض كبير في إنتاج الحضنة والعسل. هذه الدراسة هي مساهمة في معرفة فاعلية الزيت العطري من *Ammoides verticillata* ضد الفطريات المسؤولة عن داء الأسكوسفير (*Ascosphaera apis*) حيث تم استخلاص نبات *Ammoides verticillata* من تلمسان وتم استخلاص الزيت العطري الخاص به في جامعة تيسمسيلت عن طريق التقطير. .
لدراسة هذا التأثير ، تم استخدام تراكيز مختلفة من الزيت العطري من *Ammoides verticillata* (0% ، 0.0005% ، 0.005% ، 0.05% ، 0.5%) وتم تقييم الفعالية المضادة للفطريات حسب النسبة المئوية للتثبيط لنمو الفطر. على وسط استزراع SDA بعد الحضنة عند درجة حرارة 27 درجة مئوية لمدة 7 أيام.
أظهرت النتائج المتحصل عليها أن نسب التثبيط كانت متناسبة مع تراكيز الزيت العطري من *Ammoides verticillata* الذي له نشاط مضاد قوي ضد الفطريات المدروسة. في الواقع ، تحت تأثيره بتركيز 0.05% ، كان التثبيط 100%
تشير نتائجنا إلى *Ammoides verticillata* كوسيلة بديلة للمنتجات الكيميائية للسيطرة على الفطريات المسببة للأمراض.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للفطريات، زيوت اساسية (*Ammoides verticillata*) ، فطر (*Ascosphaera apis*)

Abstract

Ascospheiosis is one of the most serious diseases affecting honey bees (*Apis mellifera*) causing a significant decrease in brood and honey production. This study is a contribution to the knowledge of the effectiveness of the essential oil of *Ammoides verticillata* against the fungus responsible for ascospheiosis (*Ascosphaera apis*) where the plant *Ammoides verticillata* was extracted from Tlemcen and its essential oil was extracted at the University of Tissemsilt by distillation.

To study this effect, different concentrations of the essential oil of *Ammoides verticillata* were used (0%, 0.0005%, 0.005%, 0.05%, 0.5%) and the antifungal activity was evaluated according to the percentage inhibition of the diametrical growth of the fungus on the SDA culture medium after incubation at a temperature of 27°C for 7 days

The results obtained show that the percentages of inhibition were proportional to the concentrations of the essential oil of *Ammoides verticillata* which has a strong antifungal activity against the fungal species studied. Indeed, under its action at a concentration of 0.05%, the inhibition was 100%

Our results suggest *Ammoides verticillata* as an alternative means of chemical products to control pathogenic fungi.

Keywords : antifungal activity, essential oils, *Ammoides verticillata*, fungus, *Ascosphaera apis*

Résumé :

L'ascosphérose est l'une des maladies les plus graves affectant les abeilles mellifères (*Apis mellifera*) provoquant une diminution significative de la production de couvain et de miel. Cette étude est une contribution à la connaissance de l'efficacité de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* contre le champignon responsable de l'ascosphérose (*Ascosphaera apis*) où la plante *Ammoides verticillata* a été extraite de Tlemcen et son huile essentielle a été extraite à l'Université de Tissemsilt par distillation.

Pour étudier cet effet, différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* ont été utilisées (0%, 0,0005%, 0,005%, 0,05%, 0,5%) et l'activité antifongique a été évaluée selon le pourcentage d'inhibition de la croissance diamétrale du champignon sur le milieu de culture SDA après incubation à une température de 27°C pendant 7 jours

Les résultats obtenus montrent que les pourcentages d'inhibition étaient proportionnelle aux concentrations de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* qui présente une forte activité antifongique vis-à-vis de l'espèce fongique étudiée. En effet, sous son action à la concentration de 0,05%, l'inhibition était de 100%

Nos résultats permettent de suggérer *Ammoides verticillata* comme moyen alternatif des produits chimiques pour lutter contre les champignons pathogènes.

Mots clés : activité antifongique, huile essentielle, *Ammoides verticillata*, champignon, *Ascosphaera ap*