



République Algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID - TLEMCEEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département d'Ecologie et Environnement

Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels

THÈSE

Présentée par

BELHADJI Amina

En vue de l'obtention du

Diplôme de Doctorat LMD

En : « Ecologie Animale »

THÈME

Recherche des biomolécules d'origine végétale à pouvoir acaricide et leurs applications sur le *Varroa destructor* par les méthodes de modélisation moléculaire

Soutenu le : 02 / 07 / 2025 , devant le jury composé de :

Président	MERZOUK Abdessamad	Professeur	Université de Tlemcen
Directeur de thèse	HASSANI Faïçal	Professeur	Université de Tlemcen
Co – directrice de thèse	ABDELLI Imane	Professeur	ESSA Tlemcen
Examineurs	BOUCHIKHI TANI Zoheir	Professeur	Université de Tlemcen
	CHEMOURI Hafida	Professeur	ESSA Tlemcen

Année universitaire 2024-2025

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications et communications

- ✓ 06 publications internationales dont : deux publications auteur principal et quatre publications co-auteur.

- ✓ 43 communications dont : 16 communications internationales et 27 communications nationales.

An *in silico* study into the bioacaricide power of the Algerian argan tree against *Varroa destructor*

Amina Belhadji^{1*},

Imane Abdelli^{2,3},

Faiçal Hassani¹,

Sohayb Bekkal Brikci¹,

Sarra Ghalem¹,

Hafiz Muzzammel Rehman⁴,

Réda Kechairi¹

¹ Laboratory of Ecology
and Management
of Natural Ecosystems,
Faculty of SNV-STU, University
of Tlemcen, BP 119, Imama,
13000 Tlemcen, Algeria

² University Abou Bakr Belkaid,
Faculty of Sciences, Department
of Chemistry, Laboratory of Natural
and Bioactive Products (LASNABIO),
Tlemcen, Algeria

³ Graduate School of Applied Sciences,
Tlemcen, Algeria

⁴ University of the Punjab,
School of Biochemistry and Biotechnology,
Lahore, Pakistan

Varroa destructor is the parasitic mite of the honeybee, *Apis mellifera*. It presents a major threat to the health of bees and to the quality and quantity of honey. *Varroa destructor* have increased their resistance to acaricides; consequently, the mites or their vector viruses become more virulent. Infested colonies, commonly referred to as ‘mite bombs’, facilitate the dispersal of mites and transmission of disease to stronger and healthier colonies. Acaricides are the most used means of control, although the use of these chemical products has a negative impact on the health of bees, the quality of honey, human health, and the environment. The argan tree of the genus *Argania* is a tropical tree of the Sapotaceae family. This plant is very important economically. The argan tree is the source of biologically active and edible oil. In this context, we aim to test the bioacaricide power of the argan tree to fight the *V. destructor* by molecular modelling methods.

Keywords: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, acaricide, *Argania*, bioacaricide, molecular modelling

* Corresponding author. Email: aminabelhadji95@gmail.com

INTRODUCTION

Pollinators have an essential role in the environment. The safety of our food, particularly vegetable, fruit, oilseed, and protein crop, depends on animal pollination. Therefore, the honeybee plays a very important economic role, not only in relation to its various exploited products such as honey, pollen, and royal jelly (Mekaoui, 2018) but also for its role in maintaining the diversity of plants and our food resources (Rosenkranz et al., 2010).

Varroa destructor, or the Varroa mite, the parasitic mite is considered a major pathogenic threat to the honeybee *Apis mellifera*. It is responsible for varroosis, a disease that causes the weakening and loss of colonies, and for numerous damages at the individual and colony level due to the association of the parasite with several bee viruses (Rosenkranz et al., 2010). Since the appearance of this disease, several chemical molecules have been available on the market. But the misuse of these products generates multiple drawbacks: residues in hive products, possible toxicity to bees, and the development of resistance to certain acaricidal molecules in mites (Elzen et al., 2000; Sammataro et al., 2005).

The argan tree *A. spinosa*, the only representative of the tropical family of Sapotaceae in Morocco and Algeria, is characteristic of the Sahara steppe zone (Chevalier, 1953). It protects the soil from desertification and erosion (Alados, El Aich, 2008). This tree is very important economically due to the possibility of using all the parts of the tree (oil, wood) and the uses of its parts (firewood, fodder) (Aboughe-Angone et al., 2008) (El Aich et al., 2007). *A. spinosa* is a source of biologically active and edible oil from its fruits (Stussi et al., 2005). Its oil is used in the culinary, cosmetic and traditional medicine fields (Charrouf, 2002). It has nutritional, phytochemical (Charrouf, 1984) and pharmacological qualities such as antioxidant (Cherki et al., 2005), antiproliferative (Bennani et al., 2007), cardioprotective (Charrouf et al., 2007), and hypolipidemic

(Drissi et al., 2004). It is an oil rich in essential polyunsaturated fatty acids, a source of oleic acid and linoleic acid (Rahmani, 2005). It is rich in minor and noble compounds such as tocopherols, polyphenols, sterols, carotenoids, xanthophylls, squalene (Khallouki et al., 2005) and saponins (Guillaume and Charrouf, 2005) which explains its versatility and its efficiency.

The objective of this work is to theoretically test the bioacaricide power of *A. spinosa* for the control of *V. destructor* by molecular modelling methods.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of inhibitors. The present work consists in studying the interaction and the degree of affinity between two proteins of the Varroa mite: cytochrome c oxidase and acetylcholinesterase with a series of molecules extracted from the essential oils of the fruit part of *A. spinosa* to have the most stable complex that means the lowest energy level. The plant molecules that are the subject of this study are: oleic acid, palmitic acid, gamma-tocopherol, Schottenol, palmitodiolene (POO). They were chosen according to the highest yield, which is expressed by the quantity of oil (ml) obtained from 100 g of dry plant matter (Akrouf, 2004). Their chemical structure is presented in Tables 1, 2, and 3. We downloaded the chemical structure of the inhibitors from the PubChem Drugbank database and performed molecular docking using the PyRx Autodock Vina software (v. 0.8).

We then downloaded and performed the docking with synthetic molecules (Amitraz, Coumaphos, Tau-fluvalinate) and molecules naturally present in honey (formic acid, oxalic acid, thymol) to establish a comparison between the three types of molecules (plant molecules, synthetic, and naturally present in honey) to choose the best Varroa mite inhibitor.

Preparation of the protein. We downloaded the cytochrome c oxidase protein under the access code 7AU6 from the Protein Data

Table 1. Chemical structures of plant molecules extracted from the *A. spinosa* tree (*DrugBank – PubChem Data Source*)

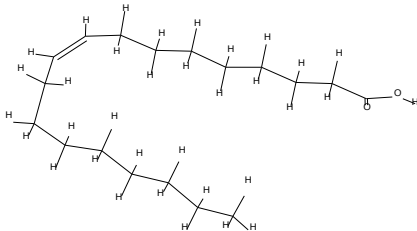
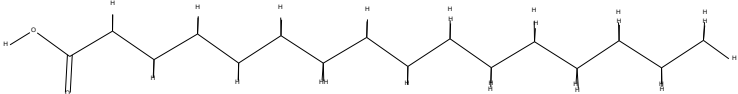
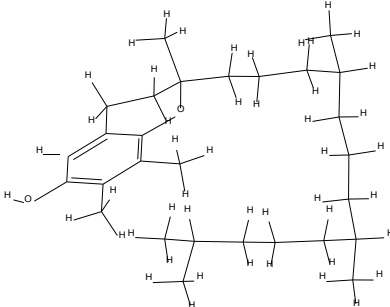
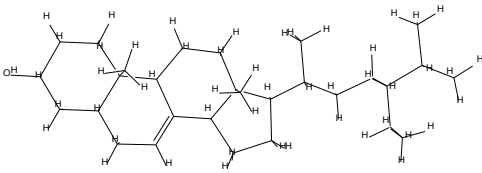
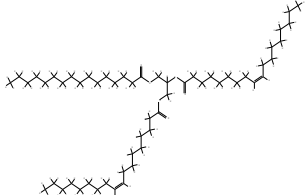
Chemical compound	Chemical structure
Oleic acid	
Palmitic acid	
Gamma-tocopherol	
Schottenol	
Palmito-diolene (POO)	

Table 2. Chemical structure of synthetic molecules (*DrugBank – PubChem Data Source*)

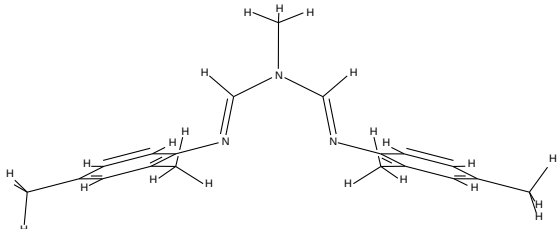
Chemical compound	Chemical structure
Amitraz	

Table 2. (Continued)

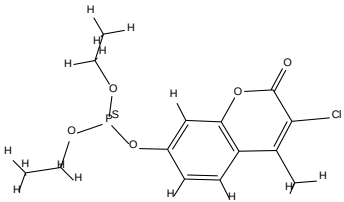
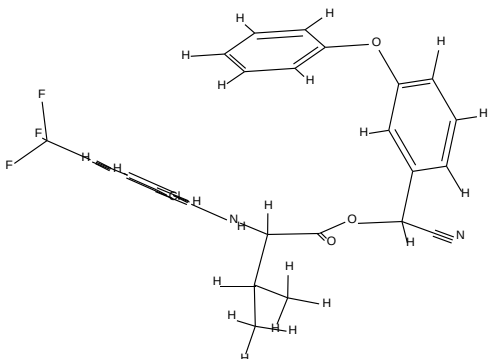
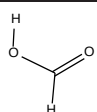
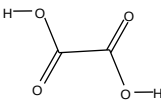
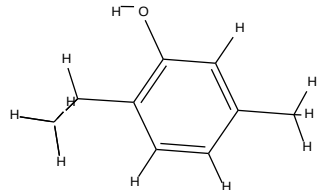
Chemical compound	Chemical structure
Coumaphos	
Tau-fluvalinate	

Table 3. Chemical structure of molecules naturally present in honey (DrugBank – PubChem Data Source)

Chemical compound	Chemical structure
Formic acid	
Oxalic acid	
Thymol	

Bank with the resolution of 2.40 Å; composed of four chains and 1180 amino acids in total. The three-dimensional structure is shown in Fig. 1.

Thus, we downloaded the acetylcholinesterase protein under the access code 1EEA with the resolution of 4.50 Å, composed of a single

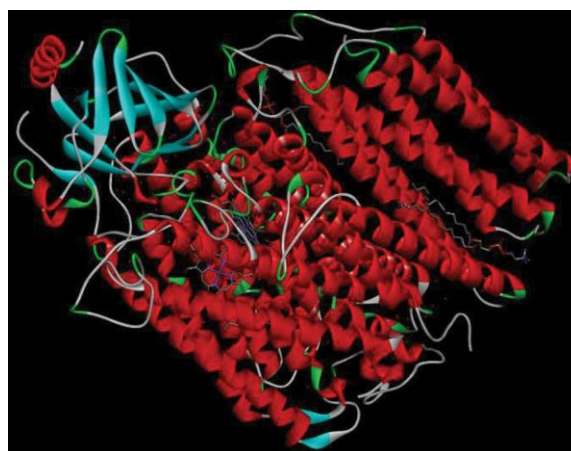


Fig. 1. Three-dimensional structure of cytochrome c oxidase protein under the access code 7AU6 (Protein Data Bank)

chain and 534 amino acids. The three-dimensional structure is shown in Fig. 2.

Molecular docking. We used molecular modelling method in this work. It is a bioinformatics tool that allows the study of biological phenomena at the atomic scale. Molecular modelling is increasingly used to study chemical reactions and protein dynamics (Hercend, 2012). Its purpose is to predict the structure

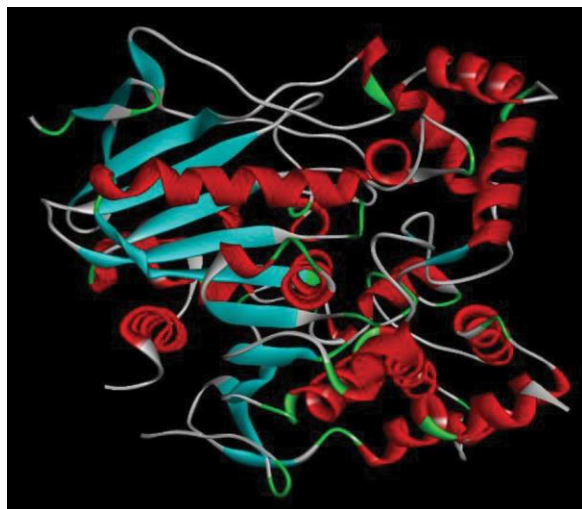


Fig. 2. Three-dimensional structure of the protein acetylcholinesterase under the accession code 1EEA (Protein Data Bank)

and reactivity of molecules (Debord). The principle of molecular modelling consists of specifying, from calculations, the position of atoms in space and calculating the energy of the structure generated. The closest possible representation to reality will correspond to a lower energy structure (Paugam, 2008). Molecular modelling involves theoretical computational methods,

including molecular mechanics (MM) and molecular docking.

Simulation of molecular dynamics. Simulations of molecular dynamics were performed using Desmond at 100 ns to investigate the binding conformational stability of the protein-ligand complex. The stability of the protein-ligand complex was observed to be maintained during the whole 100 ns simulations for compounds based on RMSD (root mean square deviation) shows the stability of the docked complex, RMSF (root mean square fluctuation) indicates the conformational flexibility of the complex, and hydrogen bond interactions (Bowers 2006). The details of the procedure are available elsewhere (El Khatabi 2022).

RESULTS

Molecular docking

We performed molecular docking with the PyRx Autodock Vina software (v. 0.8) between the cytochrome c oxidase protein under the access code 7AU6 and the eleven inhibitors; then, between the acetylcholinesterase protein under the access code 1EEA and the same inhibitors (Table 4).

Table 4. Molecular docking results

Type of molecules	Proteins/ligands	7AU6 (cytochrome c oxidase) (Kcal/mol)	1EEA (acetylcholinesterase) (Kcal/mol)
Molecules naturally present in honey	Formic acid	-2.9	-3.1
	Oxalic acid	-4.0	-4.0
	Thymol	-7.2	-6.6
Vegetal molecules	Oleic acid	-7.5	-6.8
	Palmitic acid	-6.6	-6.0
	Gamma-tocopherol	-10.4	-8.9
	Schottenol	-11.7	-11.4
	Palmito-diolen (POO)	-7.0	-7.0
Synthetic molecules	Amitraz	-10.5	-10.1
	Coumaphos	-6.1	-8.4
	Tau-fluvalinate	-11.3	-11.9

We observed that the 7AU6-schottenol complex released an energy of -11.7 kcal/mol and the 7AU6-Tau-fluvalinate complex released an energy of -11.3 kcal/mol. So, the 7AU6-schottenol complex is the most stable since it represents a better affinity with the lowest energy level compared to the others and we note that this plant molecule is the best inhibitor compared to the other types of molecules. On the other hand, the 1EEA-schottenol complex released an energy of -11.4 kcal/mol which is close to the energy released by the 1EAA-Tau-fluvalinate complex which is -11.9 kcal/mol. Thus, schottenol inhibits the protein acetylcholinesterase as well.

Figs 3 and 4 represent the pose of the plant molecule schottenol in the enzymatic cavity of each of the two proteins.

Molecular dynamics simulation

Molecular dynamics was performed on the top hit which contains high energy bonds. Projected conformational changes from the original structure were shown by RMSD. Structural stability, atomic mobility, and flexibility residues at the time of protein-hit interaction were expressed by root mean square fluctuation (RMSF) values. The RMSD values of the protein-ligand complex are presented in Fig. 5. The RMSD of the complex showed a deviation of about $2 \text{ \AA}$ up to 15 ns , then there was no significant fluctuation, and the simulation converged. It indicates the stability of the protein-ligand complex (Fig. 5) for RMSF, there was a fluctuation of approximately $3 \text{ \AA}$ from GLU 68 to CYS 80, and the remaining structure was stable comparatively and there was not much fluctuation where

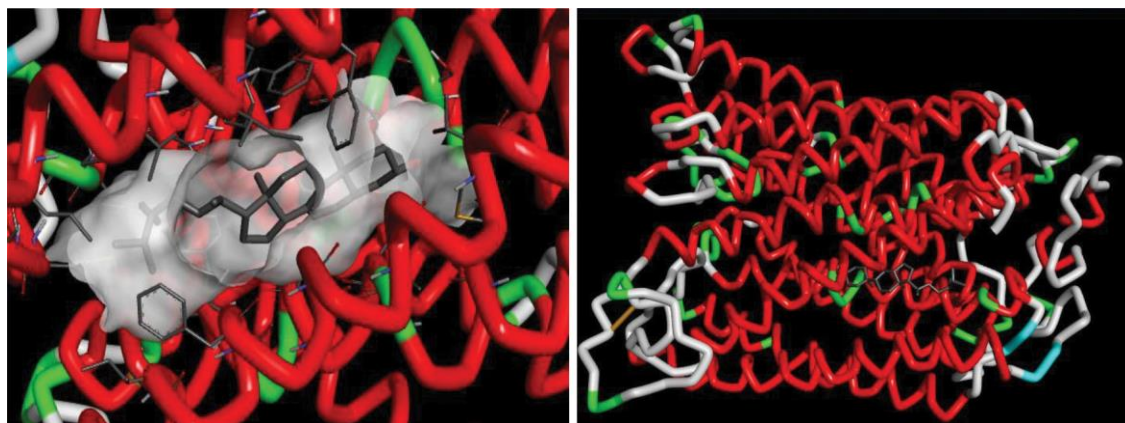


Fig. 3. The 7AU6-schottenol complex

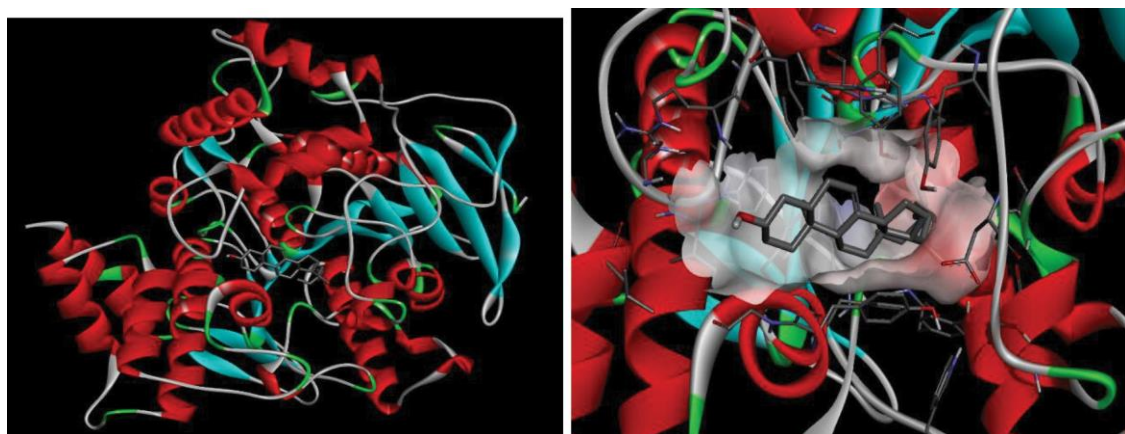


Fig. 4. The 1EEA-schottenol complex

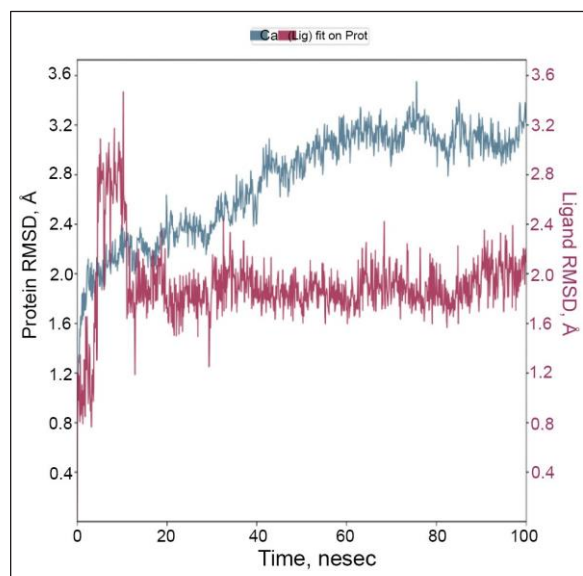


Fig. 5. The RMSD plot of protein-ligand complex

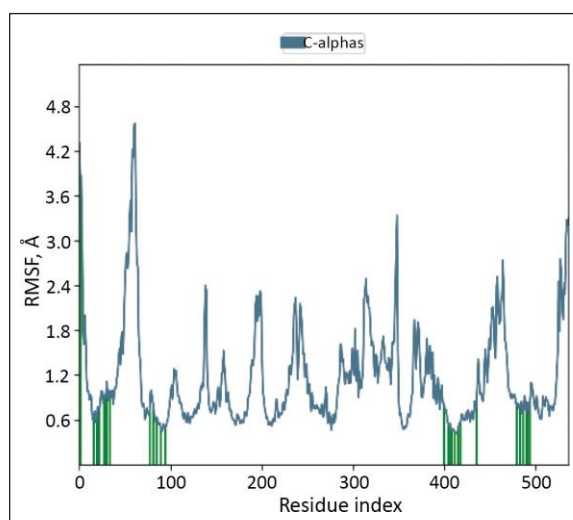


Fig. 6. The RMAF plot of the protein-ligand complex

ligand made contacts with protein (Fig. 6). The ligand showed significant different types of intermolecular interactions during the entire simulation, including hydrogen bonds, ionic, water bridges, and hydrophobic. The residues participating in these interactions include PHE

18, ILE 33, LEU 36, PHE 37, SER 46, VAL 47, THR 50, HIS 94, MET 98, VAL 102, ALA 106, PHE 111, MET 416, SER 417, VAL 421, ILE 424, PHE 425, VAL 428, ILE 432, MET 435, MET 452, SER 496, PHE 500, PHE 503, VAL 508, and LEU 511 (Fig. 7).

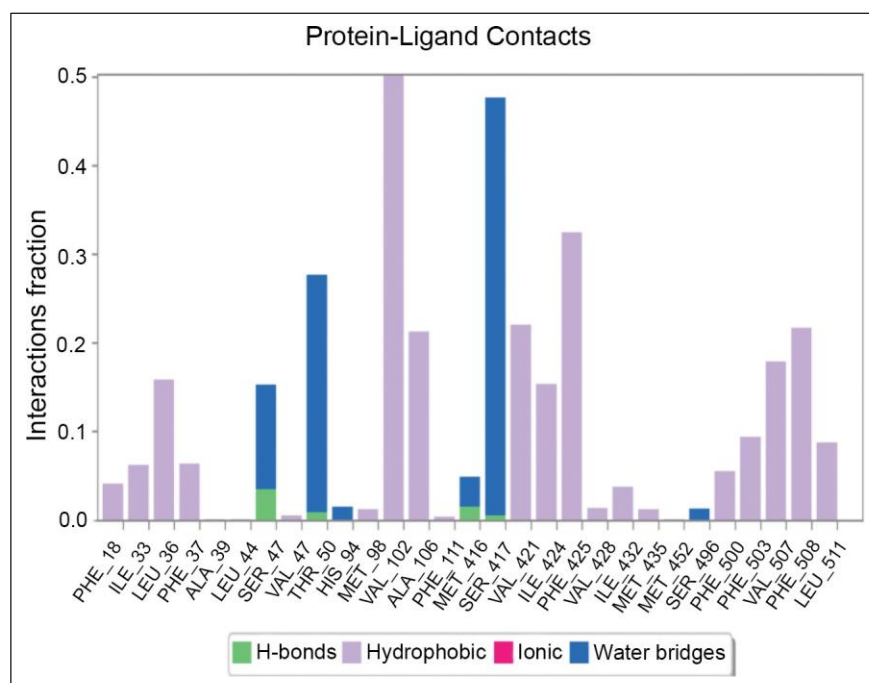


Fig. 7. Protein-ligand contacts

DISCUSSION

This paper presents the results of molecular docking and dynamic simulation between proteins of *V. destructor* and molecules extracted from the essential oils of the fruit part of *Argania spinosa* in the first time. On the other hand, it presents the results of molecular docking and dynamic simulation between proteins of *V. destructor* and synthetic molecules, then, between proteins of *V. destructor* and molecules naturally present in honey. *V. destructor* is still a major threat for apiculture during its long history (Rosenkranz et al., 2010). It causes damage to the morphology and physiology of bees. Gliński and Jarosz (1984) showed in their studies a reduction of the content of total proteins in haemolymph of drone brood parasitised by Varroa mite and the alterations were related to the intensity of the invasion.

V. destructor is also a disease vector (Gliński, Jarosz, 1992). Elzen et al. (2000) proved that Varroa mites are not only resistant to fluvalinate, but also to amitraz. Coumaphos was effective against these resistant mites. Sammataro et al. (2005) reported resistance of Varroa mite to all three acaricides (amitraz, coumaphos, and tau-fluvinat). Vilarem et al. (2021) pointed out the necessity to find a sustainable solution for honeybees and in such a way that Varroa mites do not develop any resistance. In their research results, Elzen et al. (2001) showed the efficiency of the biological activity of grapefruit leaf burning residue extract for the detachment of Varroa mite from honeybees, and grapefruit leaf burning residue had any negative side effect on the hive.

Formic acid, oxalic acid, and thymol are molecules naturally present in honey. The results of molecular docking were not too good compared with plant and synthetic molecules. The synthetic molecules (amitraz, coumaphos, and tau-fluvinat) gave a good score, especially tau-fluvinat with cytochrome c oxidase (−11.3 kcal/mol) and acetylcholinesterase (−11.9 kcal/mol). Synthetic molecules are toxic for the hive; they have a negative impact on the health of bees, the quality and quantity

of honey, and therefore on human health. Our results of molecular docking show that the difference between the score given by plant molecules and that given by acaricides molecules is not big. The score given by oleic acid, palmitic acid and palmito-diolene (POO) is close to the values given by coumaphos. Amitraz and gamma-tocopherol have practically the same values; and we note the same for tau-fluvinat and schottenol. Schottenol gave good results and it has many advantages: a small size and a minimal weight compared to tau fluvinat (DrugBank – PubChem Data Source). Finally, schottenol is a biomolecule that has no negative impact on the hive and on bee health; due to that, we can propose that *A. spinosa* has a bioacaricide power to control Varroa mites.

CONCLUSIONS

Our work aimed to test theoretically the bioacaricide power of *A. spinosa* for the control of the parasitic mite *V. destructor* by molecular modelling methods, establishing a comparison between these plant molecules and a series of molecules frequently used by beekeepers.

Molecular docking results showed that the two complexes 7AU6–schottenol complex and 1EEA–schottenol complex represent a better affinity with the lowest energy level compared to the other complexes.

The molecular dynamics results show that the complexes are stable and they have formed multiple types of bonds.

Therefore, we propose the schottenol molecule extracted from essential oils of *A. spinosa* as a possible new inhibitor of *V. destructor* and confirm the bioacaricide power of this tree for the control of this parasite of honeybees.

Received 23 October 2022

Accepted 16 November 2022

References

1. Aboughe-Angone S, Nguema-Ona E, Ghosh P, Lerouge P, Ishii T, Ray B, Driouich A. Cell wall

- carbohydrates from fruit pulp of *Argania spinosa*: structural analysis of pectin and xyloglucan polysaccharides. *Carbohydr Res.* 2008; 343: 67–72.
2. Alados CL, El Aich A. Stress assessment of argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) in response to land uses across an aridity gradient: Translational asymmetry and branch fractal dimension. *J Arid Environ.* 2008; 72: 338–49.
3. Akrouit A. (2004). *Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie)*. 5.
4. Bank RPD, n.d. RCSB PDB: Homepage [URL <https://www.rcsb.org/>] (accessed 3.14.22).
5. Bennani H, Drissi A, Giton F, Kheuang L, Fiet J, Adlouni A. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detect Prev.* 2007; 31: 64–9.
6. Bowers KJ, Chow DE, Xu H, Dror RO, Eastwood MP, Gregersen BA, Klepeis JL, Kolosvary I, Moraes MA, Sacerdoti FD. Scalable algorithms for molecular dynamics simulations on commodity clusters. In *Proceedings of the SC'06: Proceedings of the 2006 ACM/IEEE Conference on Supercomputing*, Tampa, FL, USA, 2006, p. 43.
7. Charrouf M. [Contribution of the chemical study of the oil of *Argania spinosa* (L.) (Sapotaceae)]. Science Thesis, University of Perpignan, France, 1984. French.
8. Charrouf Z. [Argan oil, a prodigious vitality born on the edge of the desert]. *Esperance Medicale.* 2002; 9: 1–8. In French.
9. Charrouf Z, Benomar M, Guillaume D. [Argan oil and the cardiovascular system, a review]. *Cœur & vaisseaux.* 2007; 4: 50–5. French.
10. Cherki M, Derouiche A, Drissi A, El Messal M, Bamou Y, Idrissi-Ouadghiri A, Khalil A, Adlouni A. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005; 15: 352–60.
11. Chevalier A. [Argan, Marmulanos and Walnuts, tree of the future in North Africa, Macaronesia and in semi-desert regions of the globe if they are protected and improved]. *Rev Int Bot Appli Agri trop.* 1953; 363–4: 165–8. French.
12. Debord J. [Molecular modeling]. [URL https://www.unilim.fr/pages_perso/jean.debord/model/model.pdf]. French.
13. Drissi A, Girona J, Cherki M, Godàs G, Derouiche A, Messal ME, Saile R, Kettani A, Solà R, Masana L, Adlouni A. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr.* 2004; 23: 1159–66.
14. DrugBank. PubChem Data Source. (s.d.). [URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/DrugBank>] [cited 22 March 14].
15. El Aich A, El Assouli N, Fathi A, Morand-Fehr P, Bourbouze A. Ingestive behavior of goats grazing in the Southwestern Argan (*Argania spinosa*) forest of Morocco. *Small Rumin Res.* 2007; 70: 248–56.
16. El Khatabi K, El-mernissi R, Moukhliiss Y, Hajji H, Rehman HM, Yadav R, et al. 2 Rational design of novel potential EGFR inhibitors by 3D-QSAR, molecular docking, molecular dynamics simulation, and pharmacokinetics studies. *Chem Data Collect.* 2022; 39: 100851.
17. Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie.* 2000; 31: 437–41.
18. Elzen PJ, Elzen GW, Stipanovic RD. (2001). Biological activity of grapefruit leaf burning residue extract and isolated compounds on *Varroa jacobsoni*. *Am Bee J.* 2001; 141: 369–71.
19. Gliński Z, Jarosz J. Alterations in haemolymph proteins of drone honey bee larvae parasitized by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie.* 1984; 15: 329–38.
20. Gliński Z, Jarosz J. *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. *Apidologie.* 1992; 23: 25–31.

21. Guillaume D, Charrouf Z. [Saponins and secondary metabolites of the argan tree (*Argania spinosa*)]. Cah Agric. 2005; 14: 509–16. French.
22. Hercend C. 2012. Contribution of molecular modelling to the study of human pathologies: application to the ATP7B transporter and to the 5HT2B receptor. Paris V University, 2012.
23. Kechairi R. [Study of the argan tree of Tindouf: State of play, constraints and prospects for its development]. Doctorat Thesis, University of Tlemcen, Algeria, 2018. French.
24. Khallouki F, Spiegelhalder B, Bartsch H, Owen RW. Secondary metabolites of the argan tree (Morocco) may have disease prevention properties. Afr J Biotechnol. 2005; 4: 381–8.
25. Mekaoui S. [Study of the acaricidal effect of two essential oils against the *Varroa destructor* mite parasite of the honey bee (*Apis mellifera*)]. Mouloud Maameri university of Tizi-Ouzou: Algeria, 2018, p. 64. French.
26. Msanda F, Aboudi AE, Peltier JP. [Biodiversity and biogeography of the Moroccan argan tree]. Cah Agric. 2005; 14: 357–64. French.
27. Paugam R. [Introduction to molecular modelling]. Institute of Molecular Chemistry and Materials, Paris University: France, 2008, p. 14. French.
28. Rahmani M. 2005. Composition chimique de l'huile d'argane 'vierge'. Cah Agric. 2005; 14: 461–5.
29. Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B. Biology and control of *Varroa destructor*. J Invertebr Pathol. 2010; 103: S96–119.
30. Sammataro D, Untalan P, Guerrero F, Finley J. The resistance of varroa mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. Int J Acarol. 2005; 31: 67–74.
31. Stussi I, Henry F, Moser P, Danoux L, Jeanmaire C, Gillon V, et al. *Argania spinosa* – How ecological farming, fair trade and sustainability can drive the research for new cosmetic active ingredients. SOFW J. 2005; 131: 35–46.
32. Vilarem C, Piou V, Vogelweith F, Vétillard A. *Varroa destructor* from the laboratory to the field: control, biocontrol and IPM perspectives – A Review. Insects. 2021; 12: 800.

Amina Belhadji, Imane Abdelli, Faïçal Hassani, Sohayb Bekkal Brikci, Sarra Ghalem, Hafiz Muzzammel Rehman, Réda Kechairi

ARGANO MEDŽIO KAIP BIOAKARICIDO POVEIKIO VARROA DESTRUCTOR ERKĖMS TYRIMAS IN SILICO (ALŽYRAS)

Santrauka

Varroa destructor yra naminių bičių (*Apis mellifera*) parazitinė erkė, didžiausią grėsmę kelianti bičių būklei. Didėjantis *Varroa destructor* populiacijos atsparumas akaricidams rodo, kad erkės ar jų pernešami virusai tampa vis labiau virulentiški. Užsikrėtusios kolonijos, paprastai vadinamos „erkių bombomis“, palengvina erkių išplitimą ir ligų perdavimą į stipresnes ir sveikesnes kolonijas. Dažniausiai naudojamos akaricidinės kontrolės priemonės turi neigiamą poveikį bičių būklei ir medaus kokybei, žmonių sveikatai ir aplinkai. Argano medis yra atogrąžų Sapotaceae šeimos atstovas. Jis yra biologiškai aktyvus ir maistinio aliejaus šaltinis. Mes siekėme išbandyti argano medžio bioakaricidinį poveikį *Varroa destructor* erkėmis molekulinio modeliavimo metodais.

Raktažodžiai: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, akaricidas, *Argania*, bioiakaricidas, molekulinis modeliavimas

Remerciements

Je remercie d'abord le bon Dieu, tout puissant et miséricordieux, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

*Je tiens à remercier Monsieur **HASSANI Faïçal**, Professeur à l'Université de Tlemcen, département d'Ecologie et Environnement, d'avoir supervisé ce travail ; pour sa disponibilité et ses conseils constructifs.*

*Je tiens à remercier Madame **ABDELLI Imane**, Professeur à l'Ecole Supérieure en Sciences Appliquées de Tlemcen, d'avoir dirigé ce travail ; pour son orientation et ses encouragements.*

*Je remercie Monsieur **MERZOUK Abdessamad**, Professeur à l'Université de Tlemcen, département d'Ecologie et Environnement, et directeur de laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je remercie Monsieur **BOUCHIKHI TANI Zoheir**, Professeur à l'Université de Tlemcen, département d'Ecologie et Environnement, d'avoir examiné ce travail.*

*Je remercie Madame **CHEMOURI Hafida**, Professeur à l'Ecole Supérieure en Sciences Appliquées de Tlemcen, d'avoir examiné ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **BEDJAOUI Mohammed Chakib**, Professeur à l'Université de Tlemcen, département de Génie Civil, d'avoir m'accueilli lors des sorties sur son rucher. Je suis reconnaissante pour le temps qu'il m'a accordé et pour son aide précieuse.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Madame **LABIB Mai**, Professeur à l'Institut de Recherche en Génie Génétique Agricole, Centre de Recherche Agricole, le Caire, Egypte, de m'avoir formé dans le domaine de la modélisation moléculaire et d'avoir contribué aux calculs du docking et dynamique moléculaire.*

*Je suis infiniment reconnaissante à Monsieur **SALAH Islam**, Bioinformaticien et ingénieur de logiciels, le Caire, Egypte, de m'avoir guidé avec tant de bienveillance.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **BOUKLI HACENE Ahmed Sofiane**, M.C.B à l'Université de Tlemcen, département d'Ecologie et Environnement, pour sa confiance, son soutien et ses conseils tout le long de mon parcours universitaire.*

*Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame **GHALEM Sarra** et **BENKBIL Zineb**, M.C.B à l'Université de Tlemcen, département d'Ecologie et Environnement, pour leur aide, leurs encouragements et leurs conseils sur le plan académique et personnel.*

Je tiens à remercier tous les enseignants et l'équipe de département d'Ecologie et Environnement, laboratoire d'Ecologie et de Gestion des Ecosystèmes Naturels et laboratoire Valorisation des Actions de l'Homme pour la Protection de l'Environnement et Application en Santé Publique.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A ma très chère maman

A la mémoire de mon père

A mes frères et mes sœurs

A Moussa et Fadhila, qui étaient un deuxième père et une deuxième maman pour moi

A Mon beau-frère Mustapha ; qui a assuré les sorties sur terrain et qui m'a accordé son temps et ses efforts

Aux frères BENDJILALI qui m'ont accueilli lors des sorties sur leur rucher

A monsieur CHOUITI Khaled qui m'a accueilli lors des sorties sur son rucher

A mes cousines et mes cousins qui ont fourni le matériel nécessaire pour l'élaboration de ce travail

A BELAIDI Younes, mon véritable ami, qui m'a soutenu et qui a été disponible tout le long de ma formation doctorale

A ACHOUR Mohammed Ilyes et BEKKAR Abdellatif qui m'ont encouragé tout le long de la réalisation de ce travail

A toutes personnes que j'aime

Amina BELHADJI

Table des matières

Introduction générale	1
I. Abeille domestique, <i>Apis mellifera</i>	4
1. Généralités.....	4
2. Systématique	5
3. Races d'abeilles	5
4. Castes.....	8
4.1. Reine.....	8
4.2. Faux bourdon	8
4.3. Ouvrière	9
4.4. Nettoyeuses	10
4.5. Nourrices.....	10
4.6. Bâtisseuses	11
4.7. Manutentionnaires	11
4.8. Ventileuses.....	11
4.9. Gardiennes et soldats.....	12
4.10. Butineuses.....	12
5. Morphologie externe.....	12
5.1. Corps	13
5.2. Tête.....	13
5.3. Les yeux.....	14
5.3.1. Les yeux simples	15
5.3.2. Les yeux composés.....	15
5.4. Antennes	15
5.5. Appareil buccal	16

5.6.	Thorax.....	16
5.7.	Ailes.....	16
5.8.	Pattes	16
5.9.	Abdomen.....	16
5.10.	Appareil vulnérant.....	17
6.	Anatomie interne	18
6.1.	Appareil digestif et excréteur.....	18
6.2.	Appareil respiratoire	19
6.3.	Appareil circulatoire	19
6.4.	Appareil musculaire.....	19
6.5.	Système nerveux	20
6.6.	Organes de sens.....	20
6.6.1.	Organes photo-récepteurs	20
6.6.2.	Organes mécano-récepteurs et chimio-récepteurs.....	20
7.	Langage des abeilles	21
8.	Appareil génital	22
9.	Cycle de vie.....	23
10.	Importance des abeilles : Rôle écologique.....	25
11.	Produits de la ruche	25
11.1.	Miel	25
11.2.	Cire	26
11.3.	Pollen.....	27
11.4.	Propolis.....	27
11.5.	Gelé royale.....	28
11.6.	Venin d'abeille	28

12. Ennemies de l'abeille	28
12.1. Lézard	28
12.2. Fourmis	29
12.3. Musaraigne	29
12.4. Pic – vert	29
12.5. Frelon asiatique	29
12.6. Souris	29
12.7. Rats	30
12.8. Guêpes	30
12.9. Oiseaux	31
12.10. Fausses teignes	31
13. Maladies des abeilles	32
13.1. Loque américaine	32
13.2. Loque européenne	33
13.3. Nosémose	34
13.4. Amibiase	35
13.5. Varroase	35
II. Acarien ectoparasite, <i>Varroa destructor</i>	36
1. Généralités	36
2. Historique de l'invasion du parasite	36
3. Apiculture et <i>Varroa destructor</i> en Algérie	38
4. Nomenclature	39
5. Morphologie du parasite	40
6. Cycle de vie	42
6.1. Phase de reproduction	43

6.2. Phase phorétique	44
7. Nutrition.....	44
8. Perception chimique et thermique	45
9. Sources de contamination.....	45
10. Mode de transmission	46
11. Distribution de la population du parasite dans la colonie et dispersion.....	46
12. Dynamique de la population de <i>Varroa destructor</i>	47
13. Impact du parasite sur les abeilles mellifères.....	48
13.1. A l'échelle individuelle	48
13.2. A l'échelle de la colonie	48
13.3. Varroa, vecteur de maladie.....	49
14. Conditions propices et néfastes pour le parasite.....	49
15. Dépistage.....	50
16. Lutte contre le <i>Varroa destructor</i>	51
16.1. Lutte chimique	51
16.1.1. Tau – fluvalinate.....	51
16.1.2. Amitraz	52
16.2. Acides organiques	54
16.2.1. Acide formique.....	54
16.2.2. Acide oxalique.....	54
16.3. Huiles essentielles	54
16.4. Méthodes biotechniques.....	55
16.5. Méthode de contrôle thermique	55
III. Huile essentielle	56

1. Généralités.....	56
2. Définition	57
3. Principales utilisations des huiles essentielles	57
3.1. En médecine	57
3.2. En pharmacie.....	58
3.3. Sur le plan psychologique.....	58
3.4. En parfumerie et cosmétique.....	58
3.5. Dans l'industrie agroalimentaire	59
4. Mode de production des huiles essentielles	59
4.1. La distillation à la vapeur	59
4.2. L'hydrodistillation	60
4.3. L'expression à froid	61
4.4. La distillation sèche.....	61
4.5. Extraction assistée par micro-ondes.....	61
5. Composition chimique des huiles essentielles.....	62
5.1. Terpènes.....	62
5.2. Monoterpènes.....	62
5.3. Sesquiterpènes.....	63
5.4. Les composés aromatiques.....	63
5.5. Composés d'origine divers	63
6. Famille des Rutacées	64
6.1. Généralités	64
6.2. Systématique	64
6.3. Intérêts des Rutacées	66
7. La famille des Sapotacées	67

Etude bioclimatique	70
1. Introduction	70
2. Les facteurs climatiques.....	74
2.1. Précipitations.....	74
2.1.1. Régime des précipitations annuelles.....	74
2.1.2. Régime saisonnier	75
2.1.3. Le régime mensuel	76
2.2. Température.....	77
2.2.1. Amplitude thermique (Indice de continentalité).....	78
3. Indice d'aridité de DE MARTONNE	80
4. Quotient pluviothermique d'Emberger.....	82
5. Conclusion.....	85
Matériel et méthodes.....	87
I. Etude in silico.....	87
Partie 01	87
1. Introduction.....	87
2. Matériel.....	87
2.1. Présentation de la protéine	87
2.2. Présentation des inhibiteurs	88
2.3. Présentations des logiciels	100
2.4. Présentation des banques de données.....	101
3. Méthodes.....	102
3.1. La modélisation moléculaire	102
3.2. Méthodes de la modélisation moléculaire.....	103

3.2.1. Méthodes quantiques	103
3.2.2. La mécanique moléculaire	104
3.2.3. Dynamique moléculaire	105
3.2.4. Docking moléculaire.....	106
3.2.5. Interactions protéines – ligands.....	110
3.2.6. Les interactions de Van Der Walls	110
3.2.7. Les liaisons hydrogènes	111
3.2.8. Les interactions hydrophobes.....	111
3.2.9. Les interactions électrostatiques.....	112
3.3. Les paramètres ADME	112
3.3.1. Règle de LIPINSKI	113
3.4. La modélisation par homologie.....	113
3.4.1. Les étapes de la modélisation par homologie	114
Partie 02	115
I. Matériel (Belhadji et al., 2022)	115
1. Préparation de la protéine	115
2. Préparation des inhibiteurs.....	117
II. Méthodes	119
Sur terrain... ..	119
I. Protocole 01	119
1. Matériel	119
1.1. Station 01	119
1.2. Station 02.....	121
1.3. Station 03.....	124
2. Méthode	128

II. Protocole 02.....	130
1. Matériel.....	130
1.1. Station 01.....	130
1.2. Station 02.....	130
2. Méthode	133
Résultats et discussion.....	136
I. Résultats.....	136
1. Etude in silico.....	136
Partie 01	136
1. Préparation de la protéine	136
1.1. KEGG pathway	136
1.2. Uniprot.....	139
1.3. BLAST	139
1.4. Modélisation par homologie	142
1.4.1. Détermination du site actif de la protéine et le ligand de référence	148
2. Préparation des inhibiteurs.....	149
3. Ressemblance médicamenteuse et propriétés analogues des inhibiteurs.....	154
4. Optimisation de l'énergie.....	161
5. Docking moléculaire.....	165
6. Complexes formés	168
7. Interactions chimiques 2D.....	174
8. Interactions hydrophobes	211
9. Interactions hydrogènes	215

10. Interactions d'ionisabilité	219
11. Interactions SAS	224
12. Cartes d'interaction 2D.....	228
13. Dynamique moléculaire	246
13.1. Calcul d'énergie libre contraignant à l'aide de MM-GBSA.....	247
14. Partie 02 (Belhadji et al., 2022).....	254
1. Docking moléculaire.....	254
2. Dynamique moléculaire	256
15. Conclusion.....	259
2. Sur terrain.....	261
1. Protocole 01	261
1.1. Station 01	261
1.2. Station 02	261
1.3. Station 03.....	261
2. Protocole 02	263
2.1. Au niveau du laboratoire.....	263
2.1.1. Expérience 01	263
2.1.2. Expérience 02.....	265
2.1.3. Expérience 03.....	267
2.1.4. Expérience 04.....	268
2.1.5. Expérience 05.....	269
2.1.6. Expérience 06.....	270
2.2. Application du traitement dans la ruche	273
3. Conclusion.....	280

II. Discussion	281
Conclusion générale.....	284
Références bibliographiques.....	287

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition du miel mûr	26
Tableau 2: Différences entre <i>Varroa destructor</i> et <i>Varroa jacobsoni</i>	38
Tableau 3: Données géographiques des trois stations.....	71
Tableau 4: Données climatiques des trois stations durant l'ancienne période (1913-1938)	72
Tableau 5: Données climatiques des trois stations durant la nouvelle période (1992– 2023)..	73
Tableau 6: Indice de continentalité	79
Tableau 7: Indice d'aridité de De Martonne	80
Tableau 8: Etage bioclimatique des trois stations durant les deux périodes en fonction du quotient d'Emberger	82
Tableau 9: Composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de <i>Ruta chalepensis</i> de la région de Tlemcen	89
Tableau 10: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus limon</i> de la région de Tlemcen.....	90
Tableau 11: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus sinensis</i> de la région de Tlemcen.....	91
Tableau 12: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus aurantium</i> de la région de Tlemcen.....	92
Tableau 13: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citrus clementina</i> de la région de Tlemcen.....	93
Tableau 14: Composition chimiques des huiles essentielles des fruits des cinq espèces du genre <i>Fortunella</i> (Corse, France).....	93

Tableau 15: Composition chimiques des huiles essentielles des feuilles des cinq espèces du genre <i>Fortunella</i> (Corse, France)	95
Tableau 16: Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Poncirus trifoliata</i>	97
Tableau 17: Structure chimique des molécules naturelles	117
Tableau 18: Structure chimique des molécules synthétiques	118
Tableau 19: Matériels utilisés sur terrain	127
Tableau 20: Matériels utilisés.....	132
Tableau 21: Doses d'acétone et de l'huile essentielle.....	134
Tableau 22: Top 10 des modèles de "thread" utilisés par I-TASSER.....	144
Tableau 23: Top 10 des analogues structuraux identifiés dans la bibliothèque PDB.....	146
Tableau 24: Détermination du site actif de la protéine.	148
Tableau 25: Acides aminés composant le site actif.....	148
Tableau 26: Structures chimiques des inhibiteurs naturels choisis des plantes de la famille des Rutacées	150
Tableau 27: Structures chimiques des inhibiteurs synthétiques	154
Tableau 28: Test de toxicité pour les inhibiteurs naturels avec le serveur SwissADME.....	155
Tableau 29: Test de toxicité pour les inhibiteurs synthétiques avec le serveur SwissADME	160
Tableau 30: Score du docking moléculaire des complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels.	166
Tableau 31: Score du docking moléculaire des complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs synthétiques.	167
Tableau 32: Résultats du score du docking moléculaire protéine / ligand de référence.....	168

Tableau 33: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour chaque inhibiteur naturel.	186
Tableau 34: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour chaque inhibiteur synthétique. . . .	207
Tableau 35: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison Conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour le ligand de référence.....	210
Tableau 36: Différentes composantes énergétiques du MM-GBSA, leurs valeurs moyennes et écarts types. Les valeurs sont en Kcal/mol	253
Tableau 37: Décomposition de l'énergie libre de liaison de chaque complexe. Les acides aminés sont sélectionnés pour avoir une contribution supérieure à -0,5 Kcal/mol. Les valeurs sont en Kcal/mol.....	253
Tableau 38: Résultats du docking moléculaire	254
Tableau 39: Résultats du traitement d'huile essentielle de <i>Fortunella</i> conte le <i>Varroa destructor</i>	271
Tableau 40: Effet de l'application d'huile essentielle <i>Fortunella</i> sur les abeilles.....	272
Tableau 41 : Nombre de Varroas morts après l'application de notre traitement	276

Liste des figures

Figure 1: Colonie d'abeilles	5
Figure 2: <i>Apis mellifera carnica</i>	6
Figure 3: <i>Apis mellifera caucasica</i>	6
Figure 4: <i>Apis mellifera ligustica</i>	7
Figure 5: <i>Apis mellifera mellifera</i>	7
Figure 6: Reine avec sa cour d'ouvrière	8
Figure 7: Faux bourdon.....	9
Figure 8: Une ouvrière	10
Figure 9: Ouvrière qui nourrit les larves	10
Figure 10: Les ventileuses.....	11
Figure 11: Les gardiennes	12
Figure 12: Corps de l'abeille	13
Figure 13: Tête de l'ouvrière.....	14
Figure 14: Tête des trois sortes d'abeilles : O ; d'ouvrière, R ; de la reine, F ; de faux bourdon	14
Figure 15: Les yeux composés de l'ouvrière.....	15
Figure 16: Dard d'une ouvrière	18
Figure 17: Axe de la danse qui indique la direction de la nourriture par rapport au soleil	22
Figure 18: Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte (Vue latérale).....	23
Figure 19: Cycle de vie des abeilles	24

Figure 20: Souris morte dans une ruche.....	30
Figure 21: Portière qui protège la ruche des rongeurs	30
Figure 22: à gauche: Dégâts provoqué par un pivert ; à droite : Un grillage protégeant le ruche des piverts.....	31
Figure 23: à droite : Grande fausse teigne morte ; à gauche : Petite fausse teigne	32
Figure 24: Opercules affaissés dus à la loque américaine.....	33
Figure 25: en haut : Les larves victimes de la loque européenne prennent de positions inhabituelles et paraissent fondus ; en bas : Opercules affaissés dus à la loque européenne... ..	34
Figure 26: <i>Varroa destructor</i> sur le thorax de l'abeille	35
Figure 27: Vue dorsale (à gauche) et ventrale (à droite) d'une femelle adulte	40
Figure 28: Vue dorsale (à gauche) et ventrale (à droite) d'un mâle adulte	40
Figure 29: Vue ventrale de la larve.....	41
Figure 30: Vue dorsale d'une protonympe femelle	42
Figure 31: Deutonymphe mâle à gauche ; deutonymphe femelle à droite (vues dorsales).....	42
Figure 32: Cycle de développement du Varroa.....	44
Figure 33: Varroa phorétique.....	46
Figure 34: Dynamique de population de l'abeille mellifère et du Varroa modélisé	47
Figure 35: Ailes déformées d'une abeille infestée par le <i>Varroa destructor</i>	48
Figure 36: Apivar (Amitraz).....	52
Figure 37: Lanière entre deux cadres.....	53
Figure 38: Schéma du dispositif d'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation avec un appareil de Clevenger	60

Figure 39: Dispositif d'extraction d'huile essentielle par micro- ondes.....	61
Figure 40: Différents genre de la famille des Rutacées.	65
Figure 41: <i>Argania Spinosa</i>	67
Figure 42: Fleur de l'Arganier	69
Figure 43 : Fruit de l'Arganier	69
Figure 44: Variation saisonnières des précipitations.	76
Figure 45: Variations mensuelles des précipitations dans les deux périodes.....	77
Figure 46: Variations mensuelles des températures dans les deux périodes.....	78
Figure 47: Indice d'aridité de De Martonne.....	81
Figure 48: Climagramme d'Emberger	83
Figure 49: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen.	85
Figure 50: Principe de la minimisation de l'énergie.....	105
Figure 51: Résumé des méthodes de la modélisation moléculaire	106
Figure 52: Docking protéine – ligand.	107
Figure 53: Principe « clé-serrure »	108
Figure 54: Protocole générale du docking moléculaire.....	110
Figure 55: Interaction de Van Der Walls.....	111
Figure 56: Interaction hydrogène.....	111
Figure 57: Interaction hydrophobe	112
Figure 58: Interaction électrostatique.....	112
Figure 59: Structure tridimensionnelle de la protéine Cytochrome c oxydase sous le code 7AU6.....	116

Figure 60: Structure tridimensionnelle de la protéine Acétylcholinestérase sous le code d'accès 1EEA.....	116
Figure 61: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34° 59' 18.5928" , Longitude : W 1° 20'06.45").....	120
Figure 62: Rucher dans la station de Hennaya	120
Figure 63: Lanière d'Apivar insérée dans les cadres de la ruche	121
Figure 64: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°54'51.8328", Longitude : W 1°16'49.1232").....	122
Figure 65: Rucher dans la station de Chetouene	123
Figure 66: Présence de <i>Varroa destructor</i> dans la ruche.....	124
Figure 67: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°53'19.2768"Longitude : W 1°20'30.0048")	125
Figure 68: Rucher dans la station de Mansourah	125
Figure 69: Ruche infestée dans la station de Mansourah.....	126
Figure 70: Méthode de cadre à mâle.....	126
Figure 71: Feuille blanche au fond de la ruche	129
Figure 72: Batônnetts diffuseurs placé entre les cadres de la ruche	129
Figure 73: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°53'19.2768"Longitude : W 1°20'30.0048")	131
Figure 74: Rucher dans la station Beni Hadiel.....	131
Figure 75: Etapes de l'expérience au niveau du laboratoire ; 1 : mettre de l'acétone, 2 : mettre de l'huile, 3 : appliquer le traitement sur les abeilles, 4 : observer et noter les résultats.	135
Figure 76: Forme graphique représentant la glycolyse / gluconéogenèse chez le <i>Varroa destructor</i>	137

Figure 77: D-Glucose 1-phosphate, protéine chez le <i>Varroa destructor</i>	138
Figure 78: Résultat de la recherche de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le <i>Varroa destructor</i> sur Uniprot.....	139
Figure 79: Résultats d'alignement des séquences de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le <i>Varroa destructor</i>	141
Figure 80: Facteur B normalisé prédit	143
Figure 81: Top 5 des modèles finaux prédits par I-TASSER.....	145
Figure 82: Structure 3D de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le <i>Varroa destrcutor</i> par homologie.....	147
Figure 83: Structure chimique 2D d'Adénosine monophosphate.....	149
Figure 84: Structures optimisées des ligands naturels.	164
Figure 85: Structures optimisées des ligands synthétiques.	165
Figure 86: Structure optimisée de ligand de référence	165
Figure 87: Complexes protéine / inhibiteurs naturels formés après le docking moléculaire..	173
Figure 88: Complexes protéine / inhibiteurs synthétiques formés après le docking moléculaire..	173
Figure 89: Complexe protéine / ligand de référence formé après le docking moléculaire	174
Figure 90: Interactions chimiques 2D protéine / inhibiteurs naturels.	182
Figure 91: Interactions chimiques 2D protéine / inhibiteurs synthétiques.	183
Figure 92: Interactions chimiques 2D protéine / ligand de référence	184
Figure 93: Régions hydrophobes dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.....	213
Figure 94: Régions hydrophobes dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.....	214

Figure 95: Régions hydrophobes dans le complexe protéine / ligand de référence.....	214
Figure 96: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.....	218
Figure 97: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.....	218
Figure 98: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans le complexe protéine / ligand de référence	219
Figure 99: Interactions d'ionisabilité dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.....	222
Figure 100: Interactions d'ionisabilité dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.	223
Figure 101: Interactions d'ionisabilité dans le complexe protéine / ligand de référence.....	223
Figure 102: Interactions SAS dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.....	226
Figure 103: Interactions SAS dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.....	227
Figure 104: Interactions SAS dans le complexe protéine / ligand de référence.....	227
Figure 105: LigPlot+ interaction entre la protéine et les inhibiteurs naturels	243
Figure 106: LigPlot+ interaction entre la protéine et les inhibiteurs synthétiques.	245
Figure 107: A) valeurs RMSD des trajectoires de la protéine dans différents complexes, B) montre les valeurs RMSD des ligands, C) rayon de giration pour la protéine dans différents complexes, D) SASA pour la protéine dans différents complexes, E) RMSF pour les atomes alpha de carbone de la protéine dans différents complexes, F) distance du centre de masse des différents ligands et de la protéine, G) nombre des liaisons hydrogènes.	252
Figure 108: Le complexe 7AU6 / Schotténol.....	255
Figure 109 : Le complexe 1EEA / Schotténol... ..	255
Figure 110 : Interactions 7AU6 / Schotténol.	255

Figure 111 : Interactions 1EEA / Schotténol.	255
Figure 112 : Interaction chimique 2D entre 7AU6 / Schotténol.	256
Figure 113 : Interaction chimique 2D entre 1EEA / Schotténol.	256
Figure 114 : Diagramme RMSD du complexe protéine / ligand.	257
Figure 115 : Courbe RMSF du complexe protéine / ligand.	258
Figure 116 : Contacts protéine / ligand.	258
Figure 117 : Résultats obtenus avec le protocole 01.	262
Figure 118 : Résultats de la première expérience au laboratoire	265
Figure 119 : Résultats de la deuxième expérience au laboratoire.	266
Figure 120 : Abeilles témoins.	267
Figure 121 : Histogramme présentant les résultats du traitement.	273
Figure 122 : Plateau que nous avons placé sous la caisse.	274
Figure 123 : Varroas morts et tombés naturellement + les débris des abeilles	275
Figure 124 : Batônnets d'huile essentielle entre les cadres de la ruche.	277
Figure 125 : Débris + sucre + insectes + Varroas morts	278
Figure 126 : Histogramme présentant l'efficacité de l'huile essentielle <i>Fortunella</i> pour le contrôle du <i>Varroas destructor</i>	279

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

°K : Degré Kelvin

2D : 2 dimensions

3D : 3 dimensions

μL: Micro litre

Å : Angström

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ARN : Acides Ribo Nucléiques

Atm : Atmosphérique

ATP : Adénosine Triphosphate

C : Carbone

DL : Dose létale

EC number : Numéro de la Commission des Enzymes

Etc : Et cetera

fs : Femto seconde

g/mol: Gramme par mole

H : Hydrogène

h : Heure

K : Constante de Boltzmann

Kcal/mol : Kilocalorie par mole

KJ·mol⁻¹·nm⁻¹ : Kilo joule. mole. nano mètre

Km/h : Kilomètre par heure

m : Mètre

M : Molarité

Mg : Milligramme

ml : Millilitre

mm : Millimètre

N : Nitrogène

N : Nord

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduit

nm : Nano mètre

ns : Nano seconde

O : Oxygène

P : Phosphore

SAS : Solvent accessible surface

W : Ouest

بحث عن الجزيئات الحيوية ذات الأصل النباتي ذات القوة المبيدة للقراد وتطبيقاتها على *Varroa destructor* باستخدام طرق النمذجة الجزيئية

ملخص

Varroa destructor هو أحد العث الطفيلي الرئيسي الذي يصيب النحل، *Apis mellifera*. الهدف من دراستنا هو استبدال المبيدات الكيميائية بعلاجات طبيعية من أجل السيطرة على هذه العث من خلال تثبيط بروتين D-Glucose 1-phosphate. وللقيام بذلك، استخدمنا النمذجة الجزيئية لاختيار أفضل مثبط مستخرج من الزيوت الأساسية للنباتات من عائلة Rutacée. أعطى β -Eudesmol المستخرج من الزيت العطري لأوراق *Fortunella* ارتباطاً جزيئياً جيداً وكانت قيمة النتيجة -6.9 كيلو كالوري/مول. Amitraz هو المبيد الكيميائي الأكثر استعمالاً، ولكن العث الطفيلي طور مقاومة لهذا العلاج كما أنه يبقى في منتجات الخلية. أعطى المركب D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valérianol, (E)-nérolidol رابطة هيدروجينية. أعطى المركب D-Glucose 1-phosphate/ α -eudesmol رابطتين هيدروجينيتين؛ في حين أن المركب 1-D-Glucose phosphate/Amitraz لم يعطي أي روابط هيدروجينية. أظهرت دراسة محاكاة الديناميكية الجزيئية نتائج جيدة ل- β -Eudesmol، (E)-nérolidol، α -eudesmol. أظهر مركب D-Glucose 1-phosphate/ β -Eudesmol اتجاهًا مستقرًا على مدار وقت المحاكاة. يكشف تحليل RMSD أن مركب D-Glucose 1-phosphate/ β -Eudesmol يظهر أعلى مستوى من الاستقرار بمتوسط $\text{\AA}$ 5.54 مقارنة بمركب D-Glucose 1-phosphate/Amitraz الذي يظهر بمتوسط $\text{\AA}$ 5.52. شكل المركب Schottenol المستخرج من الزيت الأساسي لشجرة Argan مركبًا مستقرًا مع بروتين Cytochrome c oxidase. بعد العلاج لمدة أسبوعين باستخدام زيت *Fortunella* العطري، أحصينا 243 من *Varroa* الميت. وبمقارنة هذا الرقم مع عدد الطفيليات التي سقطت بشكل طبيعي، نؤكد فعالية علاجنا الطبيعي للسيطرة على هذا الطفيلي.

كلمات مفتاحية: *Varroa destructor*، *Apis mellifera*، النمذجة الجزيئية، D-glucose 1-phosphate، الزيوت الأساسية.

Recherche des biomolécules d'origine végétale à pouvoir acaricide et leurs applications sur le *Varroa destructor* par les méthodes de modélisation moléculaire

Résumé

Varroa destructor est l'un des principaux acariens ectoparasites des abeilles domestiques, *Apis mellifera*. Le but de notre étude est de remplacer les acaricides chimiques par des traitements naturels afin de contrôler cet acarien en inhibant la protéine D-Glucose 1-phosphate. Pour ce faire, nous avons utilisé la modélisation moléculaire pour élire le meilleur inhibiteur extrait des huiles essentielles des plantes de la famille des Rutacées. Le β -Eudesmol extrait de l'huile essentielle des feuilles du genre *Fortunella* a donné un bon résultat du docking moléculaire. La valeur de score était de -6,9 Kcal/mol. L'Amitraz est l'acaricide le plus utilisé mais l'acarien ectoparasite a développé une résistance contre ce traitement et il persiste dans les produits de la ruche. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valérianole, (E)-nérolidol a donné une liaison hydrogène. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol a donné deux liaisons hydrogènes ; tandis que le complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz n'a donné aucune liaison hydrogène. L'étude de simulation de dynamique moléculaire a montré de bons résultats pour le β -Eudesmol, (E)-nérolidol, α -eudesmol. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol a montré une tendance stable au cours du temps de simulation. L'analyse RMSD révèle que le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol présente la plus grande stabilité avec une moyenne de 5,54 Å par rapport au complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz qui présente une moyenne de 5,52 Å. Le Schotténol extrait de l'huile essentielle de l'Arganier a formé un complexe stable avec la protéine Cytochrome c oxydase. Suite à un traitement de deux semaines avec l'huile essentielle *Fortunella* nous avons compté 243 Varroas morts. En comparant ce chiffre avec le nombre de parasite tombé naturellement nous confirmons l'efficacité de notre traitement naturelle pour le contrôle de ce parasite.

Mots clés : *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, modélisation moléculaire, D-Glucose 1-phosphate, huiles essentielles.

Research on biomolecules of plant origin with acaricidal power and their applications on the *Varroa destructor* using molecular modeling methods

Abstract

Varroa destructor is one of the major ectoparasite mite of honey bees, *Apis mellifera*. The aim of our study is to replace the chemical acaricides by natural treatments in order to control this mite by inhibiting the protein D-Glucose 1-phosphate. To accomplish this, we utilised molecular modelling to elect the best inhibitor extract from essential oils from plants of the Rutaceae family. β -Eudesmol extracted from the essential oil of the leaves of the genus *Fortunella* gave a good molecular docking results. The score value was -6.9 Kcal/mol. Amitraz is the most useful acaricide but the ectoparasite mite developed a resistance against this treatment and it persists in honeybee products. The complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol gave one hydrogen bond. The complex D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol gave two hydrogen bonds; while the complex D-Glucose 1-phosphate / Amitraz gave none hydrogen bond. The molecular dynamics simulation study showed good result for the β -Eudesmol, (E)-nérolidol, α -eudesmol. The complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol showed stable trend over the simulation time. The RMSD analysis reveals that complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol exhibits the highest stability with an average of 5.54 Å compared to the complex D-Glucose 1-phosphate / Amitraz which shows an average of 5.52 Å. Schottenol extracted from the essential oil of Argan tree formed a stable complex with the protein Cytochrome c oxidase. Following a two-week treatment with *Fortunella* essential oil, we counted 243 dead *Varroa* mites. By comparing this number with the number of parasites that fell naturally, we confirm the effectiveness of our natural treatment for controlling this parasite.

Key words: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, molecular modelling, D-Glucose 1-phosphate, essential oils.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

L'abeille domestique (*Apis mellifera*) est un insecte social de l'ordre des hyménoptères. L'abeille se distingue par la division et la spécialisation de ses tâches (**Biri, 2011**).

Un nombre important d'espèces végétales et animales dépendent des abeilles à différents stades de leur vie. Elles participent à la préservation de la continuité des écosystèmes et à la préservation de l'équilibre de la biosphère terrestre (**Straub, 2007**).

Les abeilles domestiques sont essentielles à la sécurité économique et alimentaire mondiale. Elles fournissent des produits importants à la ruche tels que le miel. L'intérêt des abeilles réside surtout dans leur rôle d'insectes pollinisateurs (**Aizen and Harder, 2009; Murphy et al., 2022**).

Apis mellifera est l'hôte et la source de nourriture de l'acarien ectoparasite *Varroa destructor* (**Vilarem et al., 2021**).

Varroa destructor, à la fois à ses stades juvéniles et adultes, provoque des malformations morphologiques chez les abeilles en se nourrissant de leur hémolymphe. De plus, il transmet des champignons, des bactéries et des virus. La maladie parasitaire appelée varroase, qui affecte les abeilles domestiques, est provoquée par cet acarien (**Peck and Seeley, 2019**).

La présence d'abeilles domestiques avec un abdomen réduit ou atrophié, des ailes et des pattes déformées et des glandes différentes diminuées et dysfonctionnelles sont des signes d'activité virale (**Nasr and Teleb, 2020; Omar, 2017; Yang and Cox-Foster, 2007**). Ces altérations entraînent un effondrement progressif de la colonie et une diminution continue du nombre de ruches, souvent également provoquée par l'apparition de maladies secondaires opportunistes (**Guzman-Novoa, 2016**).

Les apiculteurs utilisent des acaricides chimiques pour lutter contre les parasites. Les composés chimiques ont causé deux problèmes non résolus : l'émergence de résistances à de nombreux composants actifs et leur persistance dans les produits de la ruche. (**Bogdanov, 2006 ; Hernández-Rodríguez et al., 2021**).

Les acaricides synthétiques comme l'Amitraz, le Tau-fluvalinate et le Coumaphos sont les plus fréquemment utilisés pour lutter contre ces acariens. Cependant l'utilisation répétée de

ces produits chimiques dans la même ruche provoquent l'effondrement des colonies d'abeilles **(Rial-Otero et al., 2007)**.

Les acaricides peuvent être appliqués directement dans les ruches au goutte-à-goutte, par fumigation ou à l'aide de bandes imbibées d'acaricide et insérées dans les cadres des rayons. En raison de ces pratiques apicoles, les acaricides peuvent migrer de la cire d'abeille vers d'autres produits de la ruche ou s'y accumuler par dispersion **(Benito-Murcia et al., 2021; Rinkevich, 2020)**.

Les huiles essentielles sont des substances chimiques naturelles dérivées de plantes et constituées de combinaisons de molécules volatiles **(Buriani et al., 2020; León-Méndez et al., 2019)**. Etant des substances naturelles, elles se décomposent rapidement dans l'environnement et ne s'accumulent pas dans les produits de la ruche **(Bava et al., 2022; Imdorf et al., 1999)**.

La famille des Rutacées est répartie dans le monde entier et comprend environ 150 genres **(Carvalho et al., 2022)** et 2100 espèces **(Santos Junior et al., 2023)**.

Nous intéressons dans notre travail aux 4 genres les plus connus de la famille des Rutacées : *Ruta*, *Citrus*, *Poncirus*, *Fortunella*.

Fortunella est un genre de la famille des Rutacées. Les huiles essentielles, qui sont largement concentrées dans les glandes sébacées de l'écorce, des fleurs et des feuilles, constituent l'un des pourcentages les plus importants de métabolites secondaires de *Fortunella* **(Stringaro et al., 2018)**.

L'huile essentielle extraite du genre *Fortunella* est particulièrement importante en raison de sa teneur élevée en acides gras insaturés, qui abaissent le cholestérol et préviennent les maladies cardiaques **(Briggs et al., 2017)**. De plus, des recherches ont montré que l'huile essentielle du genre *Fortunella* peut réduire de 55 à 63 % la croissance des cellules cancéreuses de la prostate humaine sur une période de 24 à 72 heures **(Nouri and Shafaghatlonbar, 2016)**. Cela explique son utilisation répandue comme arôme alimentaire, arôme typique, agent antiviral, agent antiphlogistique, antioxydant, activité antimicrobienne, carminatif, déodorant et expectorant **(Al-Saman et al., 2019; Zeng et al., 2023)**.

L'arganier, le seul représentant au Maroc et en Algérie de la famille tropicale des Sapotacées, est caractéristique de la zone Saharo-steppique **(Chevalier, 1943)**.

Argania spinosa est un arbre tropical endémique au sud - ouest algérien et marocain **(Msanda et al., 2005)**.

Cet arbre a un intérêt économique très important et ceci grâce à la possibilité de l'utilisation de toutes les parties de l'arbre telles que l'huile, le bois **(Aboughe-Angone et al., 2008)** et le fourrage **(El Aich et al., 2007)**.

Argania spinosa est une source d'huile biologiquement active et comestible provenant de ces fruits **(Stussi et al., 2005)**.

Cette huile est utilisée dans le domaine culinaire, cosmétique et en médecine traditionnelle **(Charrouf, 2002)**.

Elle possède des qualités nutritionnelles, phytochimiques **(Charrouf, 1984)** et pharmacologiques tels que les activités antioxydantes **(Cherki et al., 2005)**, antiprolifératives **(Bennani et al., 2007)**, cardioprotectrices **(Charrouf et al., 2007)** et hypolipémiantes **(Drissi et al., 2004)**. C'est pourquoi elle est polyvalente et efficace.

L'objet de notre travail est de tester le pouvoir bio-acaricide des huiles essentielles des plantes de la famille des Rutacées et de l'arbre *Argania spinosa* pour le contrôle de *Varroa destructor* ; l'acarien ectoparasite des abeilles domestiques (*Apis mellifera*).

Ce travail se présente comme suit :

- ✓ Synthèse bibliographique.
- ✓ Eude bioclimatique.
- ✓ Matériel et méthodes.
- ✓ Résultats et discussion.
- ✓ Conclusion générale.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Abeille domestique, *Apis mellifera*

1. Généralités

L'abeille est une espèce d'insectes de l'ordre des hyménoptères qui vit en société, caractérisée par la division et la spécialisation des tâches.

Les abeilles vivent de manière communautaire et se divisent en deux castes : les reproductrices qui ne réalisent aucun travail matériel, et les ouvrières qui sont morphologiquement similaires aux femelles mais avec des organes génitaux atrophiés.

La reine est la seule à pouvoir pondre des œufs dans les colonies d'abeilles. Les mâles, nommés faux bourdons, fécondent la reine, un rôle qui n'est d'ailleurs joué que par quelques mâles, même si les faux bourdons sont nombreux au sein d'une même famille. Les travailleuses effectuent des tâches multiples, telles que la collecte de nourriture, l'organisation du nid, l'entretien des larves et la protection de la ruche contre les éventuels ennemis. Ils ont donc pour mission de garantir la sécurité et la prospérité de la famille.

Les ouvrières sont également réparties selon leurs métiers : il y a des nourrices, des dames d'honneur de la reine, des ventileuses, des architectes, des maçons, des cirières, des sculpteurs, des récolteuses de pollen, des chimistes, des operculatrices, des nettoyeuses, des fossoyeurs, des sentinelles. La reine et les faux bourdons ne remplissent jamais ces fonctions **(Biri, 2011)**.



Figure 1: Colonie d'abeilles (Belhadji, 2023).

2. Systématique

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Sous classe : Pterygota

Ordre : Hymenoptera

Sous ordre : Apocrita

Famille : Apidae

Genre : *Apis*

Espèce : *Apis mellifera* (Le Conte, 2006).

3. Races d'abeilles

Les abeilles sont divisées en diverses espèces, également appelées races ou sous-espèces. Cependant, toutes font partie du genre *Apis*. Il appartient lui-même à l'ordre des

hyménoptères. Les hyménoptères volent avec deux paires d'ailes solidaires.

Quatre principales races représentent notre abeille domestique, *Apis mellifera*.

- ✓ L'abeille carniolienne, *Apis mellifera carnica*, se rencontre dans les Alpes autrichiennes jusqu'à la Slovénie, la Croatie et la Serbie. Elle se distingue par sa couleur grise et son tempérament doux.



Figure 2: *Apis mellifera carnica* (Waring, 2012).

- ✓ L'abeille caucasienne, *Apis mellifera caucasica*, vit dans les montagnes situées entre la mer Noire et la mer Caspienne, du sud de la Russie à l'Azerbaïdjan. Elle est semblable à *Apis mellifera carnica*.

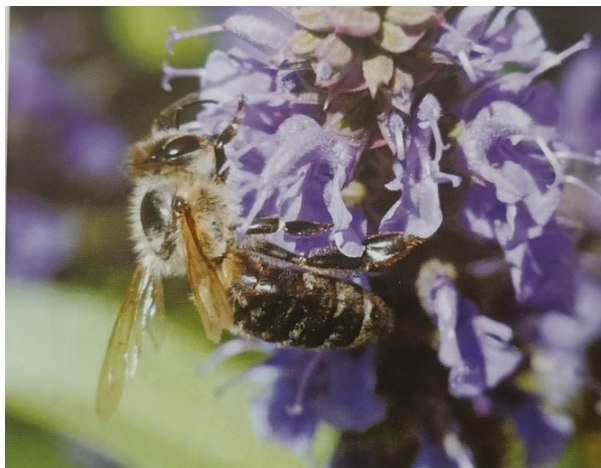


Figure 3: *Apis mellifera caucasica* (Waring, 2012).

- ✓ L'abeille italienne, *Apis mellifera ligustica*. Née en Italie, elle a colonisé de nombreuses régions du monde. Elle se caractérise par ces bandes abdominales jaunes claires ou foncées.



Figure 4: *Apis mellifera ligustica* (Waring, 2012).

- ✓ L'abeille noire, également connue sous le nom d'abeille mellifère européenne, *Apis mellifera mellifera*, a été introduite en Europe du Nord et à l'ouest de la Russie à partir du Moyen-Orient, puis a débarqué en France et dans la péninsule ibérique. Elle s'est hybridée avec des importations d'*Apis mellifera ligustica* et *Apis mellifera Carnica*.



Figure 5: *Apis mellifera mellifera* (Waring, 2012).

Chaque race présente des particularités qu'elle a développées au fil du temps pour survivre dans son milieu d'origine (Waring, 2012).

4. Castes

4.1. Reine

Toutes les abeilles de la colonie sont nées de la reine. Ses pattes sont plus longues, son abdomen et son thorax sont plus développés que ceux des ouvrières. Cependant, elle n'est pas beaucoup plus grosse qu'elles. La reproduction de la colonie se fait par essaimage, ce qui nécessite que la reine puisse s'envoler avec le premier essaim, appelé primaire (**Waring, 2012**).



Figure 6: Reine avec sa cour d'ouvrière (**Belhadji, 2023**).

4.2. Faux bourdon

Le faux bourdon est un peu plus grand que les femelles, mais beaucoup plus trapu. Il se distingue par ses deux yeux élargis et par l'extrémité carrée de son abdomen.

L'ensemble des abeilles mellifères possède cinq yeux : trois simples yeux, ou ocelles, au sommet de la tête, et deux gros yeux composés, ou à facettes, opposés. Ces yeux sont constitués de petits yeux nommés, reliés chacun au cerveau par un nerf.

Dans le cas du faux bourdon, les yeux rassemblés, resserrés en haut de la tête, projettent les ocelles en avant. Cette caractéristique lui permet d'avoir une vue très panoramique, ce qui lui permet de voler vers les lieux de rencontre et de s'accrocher avec les reines vierges (**Waring, 2012**).



Figure 7: Faux bourdon (Belhadji, 2025).

4.3. Ouvrière

Les abeilles les plus petites et les plus nombreuses de la colonie sont les ouvrières.

Elles se caractérisent par la présence de corbeilles à pollen sur leurs pattes postérieures. Des rangées de poils rigides sont disposées sur la face interne des pattes pour broser le pollen sur le reste du corps et le transporter sur les pattes postérieures.

L'abeille introduit le pollen dans les corbeilles à pollen en frottant ses pattes postérieures l'une contre l'autre, à l'aide d'une articulation spécialement conçue pour ce rôle. Son rôle est de ramener les pelotes au nid, où le pollen est utilisé pour nourrir les larves ou est conservé pour futur usage.

L'ouvrière fait appel à son dard afin de protéger la colonie. Le corps étranger est équipé de barbillons qui lui permettent de s'accrocher et de répandre son venin. Cependant, les barbillons l'empêchent de l'extraire du corps étranger, tout comme la peau humaine, ce qui lui permet de s'envoler et de mourir.



Figure 8: Une ouvrière (Belhadji, 2025).

4.4. Nettoyeuses

Elles éliminent les débris et polissent les parois avec de la propolis pour préparer les alvéoles pour la ponte (Le Conte, 2004).

4.5. Nourrices

Vers six jours, elles assurent l'alimentation des larves. Selon la caste de la larve, une alvéole est visitée de 2 000 à 3 000 fois par les nourrices en six à dix jours (Le Conte, 2004).



Figure 9: Ouvrière qui nourrit les larves (Belhadji, 2025).

4.6. Bâtisseuses

Les bâtisseuses travaillent en équipe pour fabriquer les alvéoles qui remplissent les rayons, tandis que les réparations, modifications et opérations des alvéoles sont effectuées de manière individuelle (**Le Conte, 2004**).

4.7. Manutentionnaires

Le pollen, la propolis et le nectar qu'elles ont rapportés dans la ruche sont récupérés par les manutentionnaires après le retour des butineuses. Ensuite, ils préparent le miel ou conservent le pollen dans des alvéoles (**Le Conte, 2004**).

4.8. Ventileuses

Les ventileuses ont en moyenne dix-huit jours d'âge. En générant un courant d'air, elles contrôlent le microclimat de la colonie (température, hygrométrie, taux de dioxyde de carbone). En cas de baisse trop importante de la température dans la ruche (température optimale entre 32°C et 36°C), elles peuvent également la réchauffer en se frottant aux cadres et en faisant vibrer leurs muscles thoraciques, ce qui génère de la chaleur (**Le Conte, 2004**).



Figure 10: Les ventileuses (**Clément, 2017**).

4.9. Gardiennes et soldats

Les gardiennes et les soldats se positionnent à l'entrée de la ruche et surveillent les potentiels ennemis de la colonie. Elles contrôlent aussi l'identité des abeilles qui pénètrent (odeur propre à la colonie) afin d'éviter le pillage en période de faim. Si nécessaire, elles produisent des phéromones d'alerte qui alertent les soldats qui interviennent pour écarter l'intrus **(Le Conte, 2004)**.



Figure 11: Les gardiennes **(Clément, 2017)**.

4.10. Butineuses

Elles débutent leur activité de butinage après trois semaines. Le nectar et la propolis sont récoltés par pompage avec leur langue, et stockés dans le jabot. L'adaptation morphologique de la troisième paire de pattes permet la récolte du pollen. **(Le Conte, 2004)**.

5. Morphologie externe

L'anatomie de l'abeille, si complexe, si robuste, lui permet d'accomplir des performances extraordinaires.

5.1. Corps

Les abeilles sont pourvues d'une peau protectrice appelé exosquelette recouverte de soies et de poils durs.

L'exosquelette est formé de trois couches : la cuticule, l'épiderme et la membrane basale (Biri, 2011).

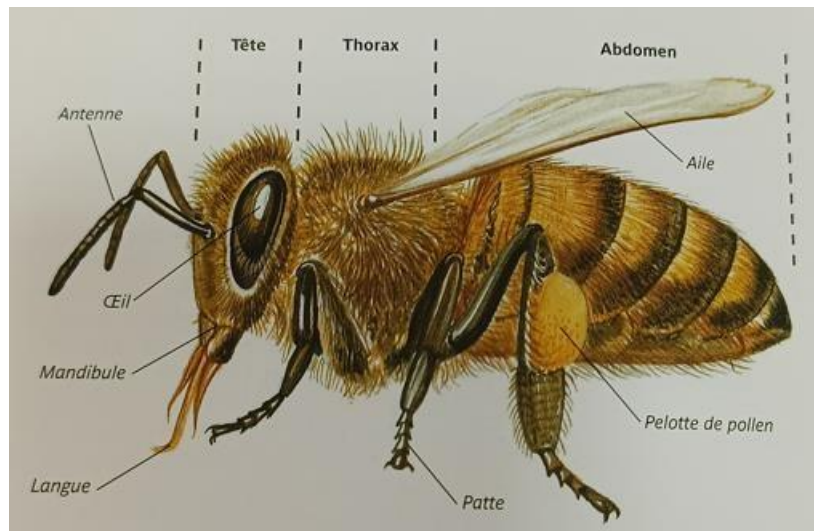


Figure 12: Corps de l'abeille (Clément, 2017).

5.2. Tête

Chez la reine, la forme de la tête est ovoïde ; chez les ouvrières est plus ou moins triangulaire ou sub-pyramide et arrondie chez les mâles.

La tête comprend les yeux, les antennes et les pièces buccales (Biri, 2011).

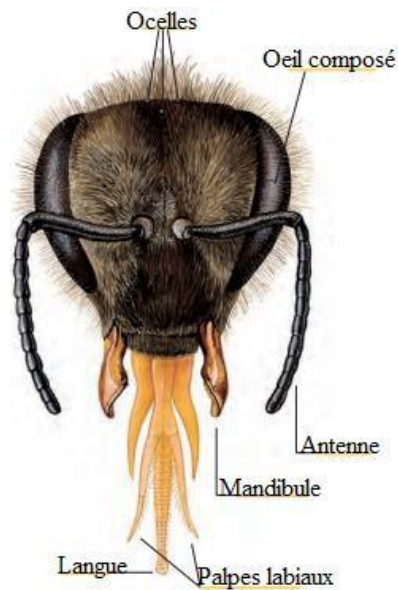


Figure 13: Tête de l'ouvrière (Bruneau et al., 2018).

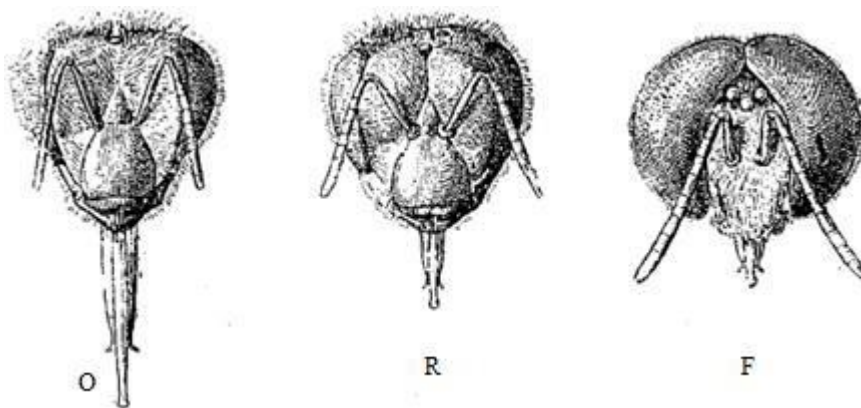


Figure 14: Tête des trois sortes d'abeilles : **O** ; d'ouvrière, **R** ; de la reine, **F** ; de faux bourdon (De Layens and Bonnier, 1897).

5.3. Les yeux

Il existe deux types des yeux : simples et composés.

5.3.1. Les yeux simples

Au nombre de trois, les yeux simples sont disposés en triangle sur le front, entre les longs poils du sommet de la tête.

Ils servent à observer les objets très proches ou placés dans des lieux assez mal éclairés, voire totalement obscurs.

5.3.2. Les yeux composés

Ils sont de nombres de deux. Ils sont grands et sont placés sur les côtés de la tête. Ils ont de nombreux poils et sont constitués de facettes. Chacun de ces éléments lenticulaires de forme hexagonale est formé par l'union de plusieurs milliers d'œil. Cela donne une image complète, même si, à l'origine, l'image est perçue comme une mosaïque (**Biri, 2011**).

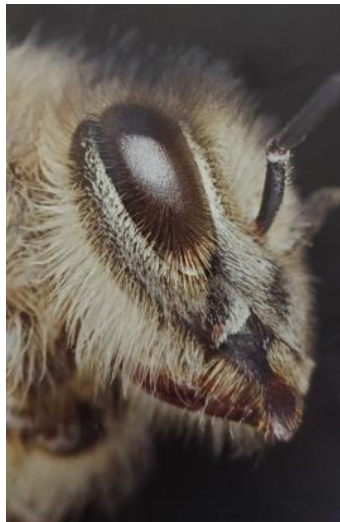


Figure 15: Les yeux composés de l'ouvrière (**Biri, 2011**).

5.4. Antennes

Elles sont de forme cylindrique et sont insérées sur le front dans des deux petites cavités connues sous le nom de torules.

Une abeille sans antennes perd toute capacité d'action, et finit par détériorer (**Biri, 2011**).

5.5. Appareil buccal

L'appareil buccal se trouve dans la partie inférieure de la tête. Il est de type lécheur – suceur. Il se constitue des lèvres inférieures et supérieures, les mandibules, les mâchoires et la langue (**Biri, 2011**).

5.6. Thorax

Le thorax, connu aussi sous le nom de corselet. Le thorax est recouvert de poils. Il est réuni à la tête grâce au cou qui est flexible et très court.

Le thorax est formé de trois segments : prothorax, mésothorax et métathorax.

L'abeille se déplace grâce au thorax, qui renferme trois paires de pattes et deux paires d'ailes (**Biri, 2011**).

5.7. Ailes

Les ailes sont entraînées par une musculature extrêmement puissante (400 à 500 battements par seconde), sont rigidifiées par des nervures et offrent des vitesses étourdissantes : de 30 à 60 km/h sur des distances de plus de 3 km. L'abeille peut donc parcourir plus de 100 km en une seule journée (**Clément, 2017**).

5.8. Pattes

Les pattes sont munies de ventouses et de crochets, permettent de se déplacer et de se fixer sur n'importe quel support, mais aussi de réunir les grains de pollen dispersés sur le corps pour en former des pelotes (**Clément, 2017**).

5.9. Abdomen

L'abdomen est constitué de dix segments. Il a la capacité de changer de volume, à la fois dans le sens de la longueur et de la largeur, ce qui peut être attribué à la respiration. De plus, le rectum a la capacité de s'allonger afin de permettre l'accumulation des excréments qui seront ensuite éliminés lors du processus de purification. Effectivement, les abeilles ouvrières évitent de salir le nid en permanence, ce qui n'est pas le cas des faux bourdons.

L'abdomen de la reine est bien plus développé, surtout après le vol nuptial, c'est-à-dire pendant l'ovulation.

À l'exception du faux bourdon, le dernier anneau de l'abdomen est muni d'une aiguillon qui sert à la fois à la défense et à l'attaque. La reine utilise un stylet en forme d'aiguillon contre les reines rivales et n'a pas de crochets, contrairement aux ouvrières. Il y a trois petites dents sur le stylet

L'organe de Nasonoff est une glande olfactive située entre le sixième et le septième tergite, qui émet une odeur spécifique à chaque famille d'abeilles et qui, enregistrée au niveau des antennes, leur permet de se reconnaître. Cette glande est également présente chez la reine (Biri, 2011).

5.10. Appareil vulnérant

L'appareil vulnérant de l'abeille se situe entre le cinquième et le sixième segment abdominal. L'orifice anal est situé sur le septième et dernier segment.

L'aiguillon est un organe vulnérant femelle composé d'un gorgeret long, creux et souple qui se rétrécit à son extrémité. À son tour, ce gorgeret se compose d'une gaine et de deux stylets dont les extrémités sont garnies de dix petites dents retournées en arrière.

Le venin de l'abeille est une substance incolore, acide, avec un goût légèrement amer et une odeur distinctive. Il possède des propriétés anti-septiques car il empêche la formation des micro-organismes lorsqu'il est inoculé. La masse d'une goutte de venin varie de 250 à 350 millièmes de milligrammes et se compose d'enzymes protéolytiques similaires à celles présentes dans le venin de certaines espèces de serpents.

La douleur aiguë de la piqûre de l'abeille se transforme en démangeaison : elle s'estompe habituellement en quelques minutes.

La peau réagit immédiatement : d'abord, la partie blessée devient blanchâtre, puis rougit et se tumeur plus ou moins. Les réactions graves chez l'homme sont rares. Il a la capacité de se protéger progressivement contre les piqûres d'abeilles. Au fil du temps, cette immuabilité peut être presque totale. Au printemps, les piqûres d'abeilles sont bien plus douloureuses qu'en automne et en hiver.

La vertu thérapeutique du venin est reconnue en polyarthrite aiguë et suraiguë et en douleurs rhumatismales : c'est pourquoi il est utilisé en médecine.

Les crochets qui maintiennent l'aiguillon de l'abeille ouvrière dans le tissu ne lui permettront pas de retirer l'aiguillon qui reste, dans ce cas, attaché au tissu blessé. Il est retiré de l'abdomen et suit un fragment d'intestin (**Biri, 2011**).



Figure 16: Dard d'une ouvrière (**Biri, 2011**).

6. Anatomie interne

6.1. Appareil digestif et excréteur

La bouche est le point de départ du système digestif qui se prolonge par l'hypopharynx puis le pharynx, qui agit comme une pompe d'aspiration.

Ensuite, l'œsophage dirige les aliments vers le jabot ; une poche extensive qui fonctionne comme un réservoir pour transporter du miel, du nectar ou de l'eau. En contractant les muscles qui l'entourent, l'abeille expulse son contenu.

L'intestin moyen (ou ventricule) est le lieu de la digestion et de l'absorption dans le système digestif. Entre le proventricule et l'intestin moyen se trouve une valve proventriculaire qui empêche le remontage des liquides dans le jabot.

Les tubes de Malpighi sont situés autour de l'intestin moyen et sont des organes de filtration des déchets du métabolisme cellulaire présents dans l'hémolymphe (comme les reins des mammifères). Les canaux se referment dans l'intestin postérieur.

Pendant l'hiver, les déchets azotés liquides se combinent avec les déchets solides de la digestion et s'accumulent dans le rectum, qui est très flexible pour permettre l'accumulation des

déchets. La défécation a lieu en dehors de la ruche lors d'un vol appelé « de propreté » (**Biri, 2011; Le Conte, 2004**).

6.2. Appareil respiratoire

Les échanges gazeux sont assurés par un réseau de sacs aériens et de trachées qui se regroupent en trachéoles qui procurent directement l'oxygène au niveau cellulaire.

Chaque segment thoracique et abdominal est constitué d'une paire de stigmates qui ouvrent les trachées sur l'extérieur. Ces stigmates sont constitués d'une valve et d'une chambre couverte de poils qui filtrent l'air. Les muscles qui ouvrent et ferment les valves sont à l'origine des mouvements respiratoires, créant ainsi une pompe puissante.

Les sacs aériens rendent aussi le vol plus facile en diminuant le poids total de l'abeille (**Biri, 2011; Le Conte, 2004**).

6.3. Appareil circulatoire

Un système ouvert constitué d'un cœur dorsal, dans l'abdomen, pousse le liquide circulatoire, et l'hémolymphe, dans une aorte qui relie l'abdomen à la tête. Ensuite, l'hémolymphe se répand de manière lacunaire autour des organes.

La circulation et le retour de l'hémolymphe vers le cœur sont assurés par deux diaphragmes, l'un ventral, l'autre dorsal, mus par des muscles abdominaux, séparés par des ostioles (**Biri, 2011; Le Conte, 2004**).

6.4. Appareil musculaire

L'abeille possède un appareil musculaire composé de fibres musculaires striées, entourées d'une membrane transparente et élastique, la sarcolemme.

Ces muscles se développent surtout au niveau du thorax, car les muscles des ailes et des pattes sont situés à cet endroit-là. Les deux muscles des ailes (longitudinaux, verticaux) ne sont pas attachés directement aux ailes, mais aux petites plaques de chitine qui forment le squelette du corselet de l'abeille.

Ce système de propulsion puissant permet à l'abeille de parcourir 500 mètres par minute (**Biri, 2011**).

6.5. Système nerveux

Le système nerveux central, le système sympathique viscéral et le système nerveux périphérique forment son ensemble.

Le cerveau représente le système nerveux central.

Le cerveau est responsable du système nerveux viscéral, qui se compose du système nerveux sympathique dorsal qui innerve l'intestin et le cœur, ainsi que du système nerveux sympathique ventral qui innerve les stigmates et les trachées.

Les cellules nerveuses du système nerveux périphérique sont dispersées dans diverses régions du corps et reliées entre elles par des névrites. Les organes sensoriels sont innervés (Biri, 2011).

6.6. Organes de sens

Les organes de sens sont classés selon leurs fonctions en : organes photo-récepteurs, mécano-récepteurs, thermo-récepteurs et hygro-récepteurs.

6.6.1. Organes photo-récepteurs

Les organes photo-récepteurs sont sensibilisés aux stimuli lumineux. Ils ne sont jamais apparents mais se trouvent situés sous une cuticule transparente.

6.6.2. Organes mécano-récepteurs et chimio-récepteurs

Ils se trouvent dans les antennes. Les terminaisons sensorielles tactiles réagissent aux stimulations tactiles telles que les récepteurs chimiques, les sensations gustatives et olfactives.

Ce sont des organes importants car ils orientent les insectes dans leur recherche de nourriture et leur orientation. Les abeilles sont généralement attirées par les substances sucrées, même si elles ont une saveur légèrement amère.

Non seulement les antennes contiennent les organes des sens, mais aussi les appendices buccaux et les pattes.

L'orientation est sans aucun doute l'une des fonctions les plus essentielles des sens.

Le comportement des abeilles démontre leur capacité à mémoriser et à communiquer entre elles.

Effectivement, dès leurs premiers jours de sortie, les butineuses effectuent des vols de repérage très lents au-dessus de la ruche afin de retrouver leur nid aisément. La tête tournée vers la ruche, elles volent en suivant des cercles concentriques de plus en plus larges. Si, à proximité de la ruche, il y a des points de repère, des maisons ou des buissons, par exemple, ce repérage n'est pas difficile. En l'absence de ces points, les abeilles se déplacent en fonction de la position du soleil. Une abeille peut se rendre à plus de 3 km de sa ruche, mais elle ne peut pas s'en éloigner **(Biri, 2011)**.

7. Langage des abeilles

La danse des abeilles est la forme de communication la plus connue. En 1944, Karl von Frisch a décrit cette technique qui permet aux abeilles de communiquer à la fois sur le lieu et la distance d'une ressource alimentaire grâce à un frémissement de l'abdomen et une danse formant un huit.

Il est connu que s'y ajoutent des interactions tactiles par l'intermédiaire des antennes, des échanges alimentaires (trophallaxie) et de nombreuses phéromones.

En plus des renseignements concernant les zones de butinage, leur distance et leur position par rapport à la ruche, les abeilles transmettent également des informations sur la quantité et la qualité des fleurs à visiter, ainsi que sur les lieux de ressources en eau.

Chacun de ces messages guide les comportements de butinage, de défense et de reproduction dans chaque colonie.

Les abeilles alertent également sur les risques, planifiant l'attaque. Chaque étranger est repéré, repoussé, voire agressé. À deux exceptions : les bourdons, admis dans toute colonie pourvu que la nourriture y soit suffisante (sinon ils sont chassés) et les butineuses qui, en se trompant de ruche, offrent un peu de nectar aux gardiennes, celles-ci les laissant alors entrer **(Riondet, 2013)**.

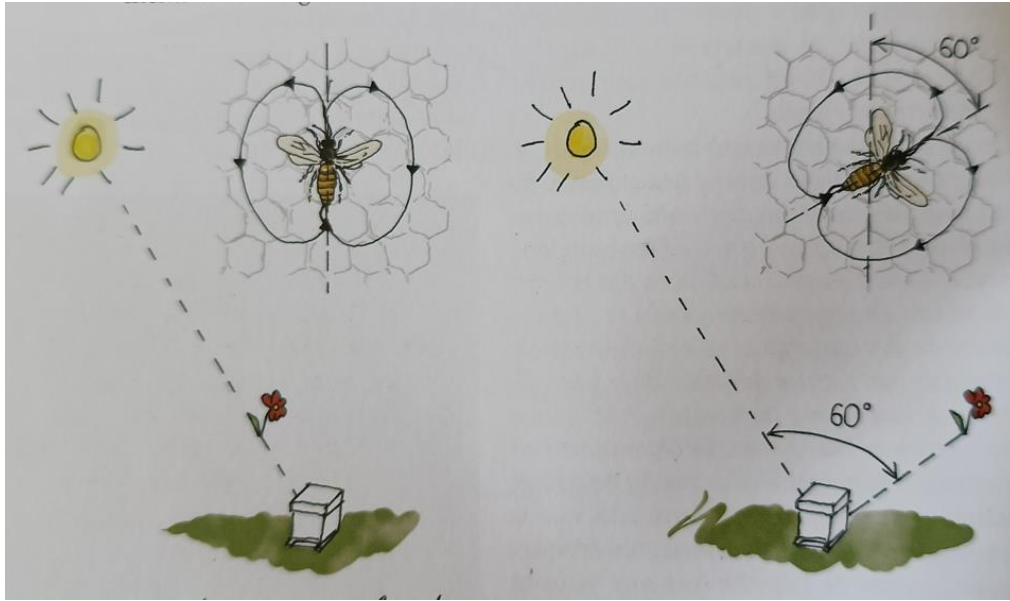


Figure 17: Axe de la danse qui indique la direction de la nourriture par rapport au soleil
(Riondet, 2013).

8. Appareil génital

Chez les abeilles, on rencontre des mâles et des femelles.

Dans toutes les familles d'abeilles, les faux bourdons représentent le sexe masculin, tandis que la reine est le seul individu fécond. On pourrait dire que les abeilles ouvrières sont des femmes manquées parce qu'elles ont des organes génitaux rudimentaires, insuffisamment développés pour la reproduction. Cependant, il est fréquent d'observer des abeilles, appelées ouvrières pondeuses ou bourdonneuses, pondre, dans certaines situations, des œufs qui ne donneront naissance qu'à des mâles (Biri, 2011).

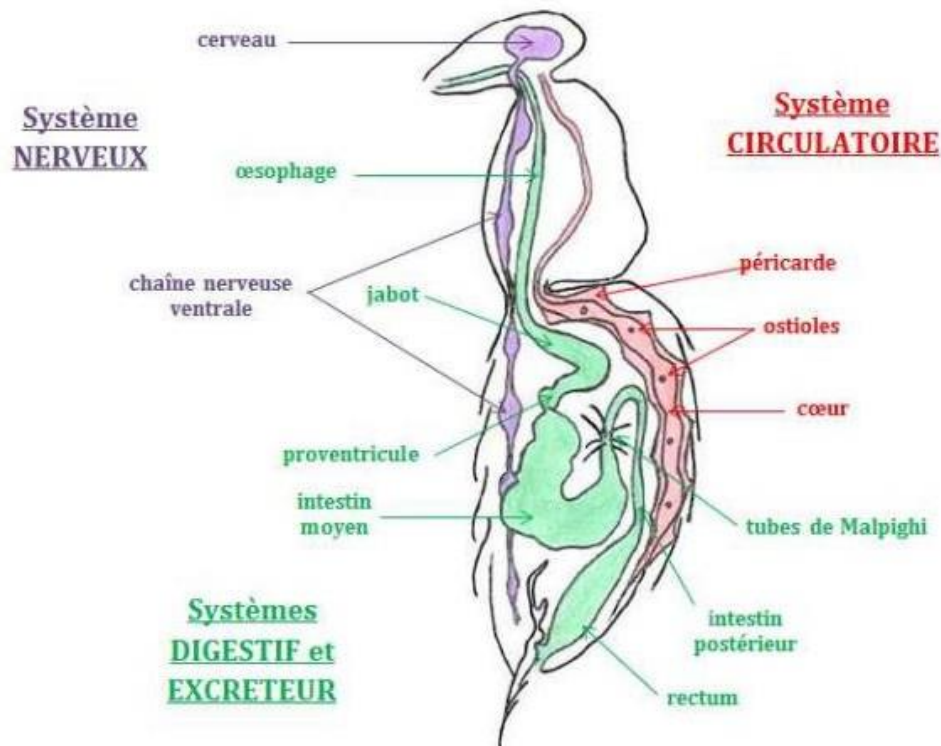


Figure 18: Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte (Vue latérale) (Paillot et al., 1949).

9. Cycle de vie

Les abeilles sont des insectes à métamorphose complète. Le stade larvaire est différent du stade adulte.

La reine fécondée s'installe au centre d'un rayon et commence à déposer un œuf dans chaque alvéole en suivant un mouvement circulaire du centre vers la périphérie. Par la suite, elle se dirige vers l'autre côté du rayon et poursuit son opération de la même façon. Elle pond dans les autres rayons lorsque le premier rayon est plein.

Une fois que l'embryon a été incubé pendant 3 jours, une petite larve éclot de l'œuf. Les ouvrières nourrices nourrissent les larves avec de la bouillie ou de la gelée royale pendant ces trois premiers jours. La bouillie royale est encore consommée par les larves royales pendant toute la durée de leur vie larvaire, c'est-à-dire pendant 3 ou 4 jours de plus. La nourriture des

autres larves est du miel ou du pollen. Les larves atteignent leur maturité dès le sixième ou septième jour et arrêtent de manger.

Les ouvrières operculatrices referment alors les cellules contenant les larves à leur sommet en utilisant de la cire.

Avant de devenir nymphe, la larve subit plusieurs mues. Par conséquent, le stade nymphal se situe entre le stade larvaire et le stade adulte. La période de cette évolution varie chez l'ouvrière, la reine et le faux bourdon. Il faut 21 jours pour que l'ouvrière devienne adulte. Elle reste 3 jours sous la forme d'un œuf, 6 sous celle d'une larve, 12 sous celle de larve et de nymphe dans la cellule operculée. La reine ne nécessite que 16 jours, tandis que le faux bourdon nécessite 24 jours (**Biri, 2011**).

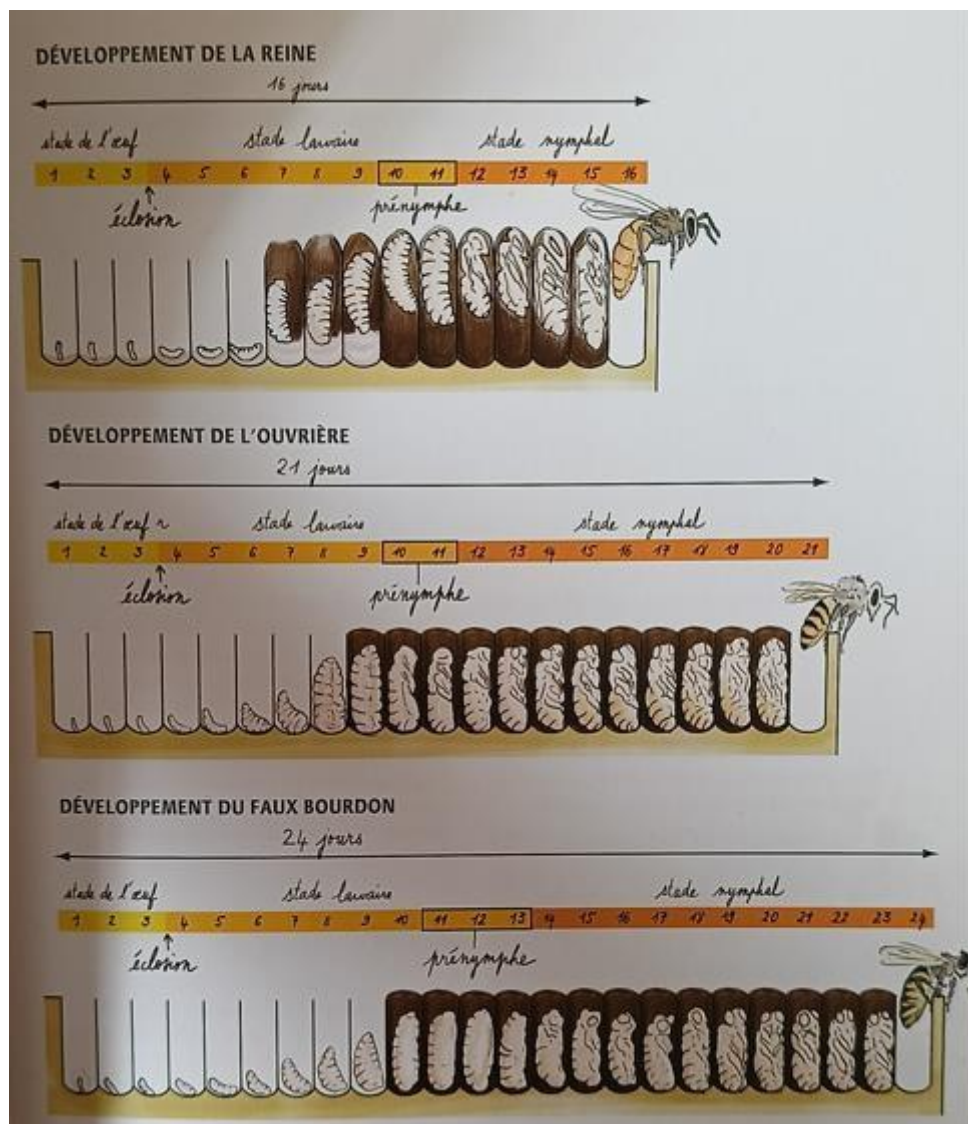


Figure 19: Cycle de vie des abeilles (**Riondet, 2013**).

10. Importance des abeilles : Rôle écologique

« Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, il ne resterait plus que quatre ans à l'homme. Plus d'abeilles, plus de pollinisation, plus de plantes, plus d'animaux, plus d'homme ».

Albert Einstein

La présence des abeilles est essentielle dans les différentes phases de la vie de nombreuses espèces végétales et animales. Elles participent à la préservation de la continuité des écosystèmes et le maintien de l'équilibre de la biosphère terrestre (**Straub, 2007**).

Elles représentent de 65 à 95 % des insectes pollinisateurs (**Gallai et al., 2009; Moritz et al., 2010; Rader et al., 2009**). Les abeilles sont indispensables pour la fécondation de 80% des plantes, et sans elles, il n'y aurait plus de fruits ou de légumes (**Diemer, 1988**).

L'abeille est un bio indicateur de la santé de l'environnement dans lequel elle vit. L'abeille domestique permet de repérer les polluants organiques et inorganiques (**Toullec, 2008**).

Elle est capable de produire du miel, de la propolis, de la gelée royale, du pollen, et de la cire. Les abeilles, représentent non seulement une importance économique mondiale ; mais aussi beaucoup d'effets bénéfiques pour la santé humaine (**Bogdanov, 2005**).

11. Produits de la ruche

11.1. Miel

Les abeilles domestiques collectent le nectar ; un liquide peu concentré, dans les fleurs et le transforment en miel en évaporant une partie de l'eau qu'il renferme et en y introduisant une enzyme spéciale qui décompose les sucres en lévulose et en dextrose.

Elles se nourrissent d'une partie de ce miel et stockent le reste dans des rayons en attendant les périodes de floraison faible.

Les abeilles laissent généralement plus de miel que nécessaire, et c'est ce surplus qui peut être récupéré par l'apiculteur.

Le miel est principalement un aliment sucré et une substance sucrée.

Il est utilisé en Afrique pour fabriquer des bières de miel, souvent les plus populaires des bières traditionnelles.

Le miel a des utilisations thérapeutiques ; il peut être combiné avec du lait chaud ou de l'eau chaude citronnée pour créer un breuvage populaire pour soulager la toux et les maux de gorge. Il possède également des caractéristiques antibiotiques et s'avère être efficace pour soigner les plaies et les brûlures.

Le miel fait de plus en plus partie des produits cosmétiques et autres produits de toilette (Paterson, 2006).

Tableau 1: Composition du miel mûr (Smith, 2003).

Composants	Pourcentage
Fructose	41
Glucose	35
Saccharose	1.9
Dextrines	1.5
Minéraux	0.2
Autres	3.4
Eau	17

11.2. Cire

Quatre paires de glandes cirières sur la face ventrale de l'abdomen des ouvrières sécrètent la cire. Ce sont de petites écailles que l'abeille mâchonne avant de les utiliser pour former les rayons. La cire fraîche a une teinte blanche, mais elle devient sombre lorsque le pollen se mélange. Quand le couvain est introduit dans les rayons, il devient de plus en plus

foncé à chaque génération élevée, car les abeilles nouvelles laissent un cocon fin dans leur cellule.

Il est plus compliqué d'extraire et de travailler la cire issue de ces rayons de couleur sombre que la cire neuve, car elle renferme ces fragments de cocon et d'autres impuretés.

La cire est principalement utilisée dans l'industrie pour la production de produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Certains artisans utilisent de la cire pour fabriquer de produits métalliques et des bougies **(Paterson, 2006)**.

11.3. Pollen

Le pollen est collecté sur les anthères des fleurs par les abeilles qui le ramènent à la ruche sous forme de petites pelotes accrochées à leur patte.

Le pollen contient de nombreuses protéines. Sa valeur commerciale est énorme et encore largement sous-exploitée.

Les apiculteurs qui le collectent le conservent généralement pour leur propre consommation ou le vendent comme complément alimentaire via des filières spécialisées dans l'alimentation diététique et naturelle **(Paterson, 2006)**.

11.4. Propolis

Les abeilles collectent principalement de la propolis sur les arbres et les arbustes. Cette substance gommeuse est employée par les abeilles pour obturer toutes les fissures à l'intérieur de la ruche et réduire la taille de l'entrée. La propolis est parfois utilisée pour embaumer les larves de fausses teignes et d'autres prédateurs qui n'ont pas pu être transportées à l'extérieur.

On peut utiliser la propolis pour combler de petits trous dans les citernes, les seaux et les toitures en tôle.

La propolis a un effet antibiotique. Elle est bénéfique pour le traitement des blessures, les problèmes de dent et les aphtes **(Paterson, 2006)**.

11.5. Gelée royale

Les abeilles produisent de la gelée royale, une sécrétion glandulaire qui leur permet de nourrir leur ruche.

Elle est consommée par les larves d'ouvrière pendant trois jours avant de passer à un régime de miel et de pollen, tandis que les larves de reine ne sont nourries que de gelée royale. Il est possible de la collecter dans les cellules royales des ruches, mais cette opération est délicate. De plus, il est nécessaire de la maintenir à une température basse en permanence.

Elle est employée dans la production de produits de beauté de qualité supérieure ou commercialisée en tant que supplément alimentaire (**Paterson, 2006**).

11.6. Venin d'abeille

On peut collecter le venin d'abeille en encourageant les abeilles à piquer une fine membrane de latex tendue sur un cadre en bois. De petits fils électriques traversent cette membrane, ce qui épuise les abeilles et les pousse à piquer. Après séchage, le venin se manifeste sous la forme de petites particules qui sont collectées au revers de la membrane.

Le venin est employé dans le domaine médical afin de protéger des individus qui ont développé une allergie aux piqûres d'abeille ou de traiter des arthrites et autres affections similaires. Cependant, la collecte et la vente du venin demeurent des tâches très spécialisées qui ne doivent être réalisées que par des apiculteurs formés dans ce domaine et disposant des marchés appropriés (**Paterson, 2006**).

12. Ennemies de l'abeille

12.1. Lézard

En automne, il tente de rentrer dans la ruche et s'installe au chaud sur le plateau de sol bien fermé, consommant régulièrement une abeille de la grappe en attendant des jours meilleurs.

Une ruche peut mourir pendant l'hiver en raison d'un lézard.

Les grilles d'entrée sont un moyen efficace de restreindre les lézards de taille importante (**Riondet, 2013**).

12.2. Fourmis

Ils sont fréquemment présents sous les isolants des toits en opposition au couvre-cadres (Riondet, 2013).

12.3. Musaraigne

À l'instar du lézard, la musaraigne s'installe à l'hiver dans la ruche.

Afin d'éviter cette intrusion, l'entrée de la ruche doit être limitée à l'automne.

Les colonies sont fréquentées par la musaraigne pendant l'été, qui inonde les plateaux de sol et les trappes à pollen d'une urine parfois infectieuse.

En principe, les colonies s'en défendent, à moins qu'un coup de froid ne leur fasse faire la grappe (Riondet, 2013).

12.4. Pic – vert

Les colonies au repos sont une ressource alimentaire privilégiée pendant l'hiver.

Le pic-vert ouvre les caisses afin de permettre aux abeilles de sortir par ces trous.

La seule façon de dissuader cet oiseau d'agir de cette manière est de poser du grillage autour des ruches afin de les éloigner de son bec (Riondet, 2013).

12.5. Frelon asiatique

Le frelon asiatique, *Vespa velutina* ; au-dessus des entrées des ruches, capture une abeille en vol, lui arrache la tête, lui déchire l'abdomen et emmène le thorax pour nourrir ses larves.

Quand il le peut, il pénètre dans les ruches à la recherche de larves de couvain ouvert, ce qui est rare pendant les périodes d'activité intense (Riondet, 2013).

12.6. Souris

Les souris causent des dommages aux ruches et au matériel conservé. Elles sont habituellement capables d'entrer dans les ruches occupées pendant l'inactivité des abeilles, c'est-à-dire quand elles sont en grappe, en hiver. Après avoir atteint l'intérieur, elles causent de graves

dommages. Elles mangent du bois et des rayons, s'approvisionnent et apportent des matériaux pour édifier leurs nids (**Waring, 2012**).



Figure 20: Souris morte dans une ruche (**Waring, 2012**).

12.7. Rats

Les rats ont une violence encore plus grande que les souris. En agissant sur le matériel entreposé, ils étendent leur urine, qui est le vecteur de la maladie de Weil (**Waring, 2012**).



Figure 21: Portière qui protège la ruche des rongeurs (**Belhadji, 2025**).

12.8. Guêpes

Les guêpes peuvent être un véritable fléau pour les abeilles lorsqu'elles s'attaquent aux réserves de miel dans les ruches à la fin de l'été. Cependant, elles ne cherchent qu'à se nourrir (**Waring, 2012**).

12.9. Oiseaux

Le pivert est sans doute le plus destructeur des oiseaux. Il considère une ruche comme une véritable opportunité, équivalente à un arbre creux rempli d'insectes.

Il s'insère dans les parois des caisses et se nourrissent d'abeilles, de cire et de miel.

En général, il attaque les ruches occupées ainsi que le matériel stocké (Waring, 2012).



Figure 22: à gauche: Dégâts provoqués par un pivert ; **à droite :** Un grillage protégeant le ruche des piverts (Waring, 2012).

12.10. Fausses teignes

Il y a deux types de teignes fausses : la grande, *Galleria mellonella* ; et la petite *Achroia grisella*.

L'une et l'autre, qui aiment la cire, peuvent causer des dégâts. La fausse teigne de grande taille préfère les rayons de couvain ; la petite préfère les hausses réservées. Lorsqu'elle atteint l'état de chrysalide, la grande fausse teigne creuserait des trous dans les boiseries de la ruche. Les fausses teignes altèrent les rayons, créant ainsi des liens de soie entre eux (Waring, 2012).



Figure 23: à droite : Grande fausse teigne morte ; à gauche : Petite fausse teigne (Waring, 2012).

13. Maladies des abeilles

13.1. Loque américaine

La bactérie *Paenibacillus larvae* est l'agent causant, dont la spore est introduite par la nourriture dans la gelée larvaire.

Pendant la croissance de la larve, la spore entre dans son intestin, puis dans son hémolymph, où se développe la bactérie.

Les spores de loque ont une résistance extrême, pouvant durer plusieurs dizaines d'années dans un environnement sec. Ils ne sont détruits par l'eau bouillante qu'à une température de 130°C, soit en étuve sous pression. Si les spores ne sont pas protégées par des concrétions de cire ou de propolis, l'eau de Javel est parfaitement efficace (**Riondet, 2013**).



Figure 24: Opercules affaiblis dus à la loque américaine (Waring, 2012).

13.2. Loque européenne

La loque européenne d'où sa découverte en Europe. Elle s'est propagée ensuite dans le monde.

La cause de la loque européenne est une bactérie appelée *Melissococcus plutonius*. Elle contamine l'intestin des larves en pleine croissance, dont elle se nourrit. Les larves décèdent de faim avant l'ouverture des cellules. Cependant, certaines larves sont résistantes à la bactérie. Elles suivent leur évolution et apparaissent à l'âge adulte. Lorsque les spores sont évacuées par les larves avec les déjections, la loque européenne se répand avant qu'elles ne deviennent nymphes.

Des infections bactériennes secondaires se produisent parfois après la mort des larves et dégagent des odeurs désagréables (Waring, 2012).



Figure 25: en haut : Les larves victimes de la loque européenne prennent de positions inhabituelles et paraissent fondus ; **en bas :** Opercules affaissés dus à la loque européenne (Waring, 2012).

13.3. Nosémose

La maladie la plus répandue qui affecte les abeilles. L'agent causant est une microsporidie *Nosema apis*.

L'intérieur de la ruche est nettoyé par les ménagères en léchant et en mordant. En agissant ainsi, elles ingèrent par hasard les spores de la nosémose, qui se multiplient dans la muqueuse de l'intestin, les empêchant ainsi de digérer normalement la nourriture, en particulier le pollen.

Ce phénomène est associé à la dysenterie, cependant toutes les abeilles touchées par cette maladie ne présentent pas de nosémose. Des marques de diarrhée brunes sont observées sur le couvre-cadres, les rayons et d'autres surfaces en cas de dysenterie.

La nosébose diminue la longévité des abeilles. La colonie se développe donc lentement au printemps et stagne ou dépérit, en fonction de la gravité de l'infection. Dans les situations graves, la colonie décède (**Waring, 2012**).

13.4. Amibiase

Un organisme, *Malpighamoeba mellificae*, est responsable de l'amibiase, qui se développe dans les tubes de Malpighi, qui sont similaires aux reins de l'abeille. Sa propagation dans la colonie est similaire à celle de la nosébose.

La maladie de l'amibiase n'est pas sévère ; une colonie infectée peut être transmise à un rayon sain.

L'amibiase est fréquemment associée à la nosébose. Si des symptômes externes sont présents, elle ne peut être détectée que par un examen au microscope (**Waring, 2012**).

13.5. Varroase

Varroa destructor, l'agent causant de la varroase. Il représente un des grands fléaux de l'apiculture mondiale. Depuis, cet acarien a causé des dommages importants qui ont exigé la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre le Varroa (**Waring, 2012**).



Figure 26: *Varroa destructor* sur le thorax de l'abeille (**Belhadji, 2023**).

II. Acarien ectoparasite, *Varroa destructor*

1. Généralités

Varroa destructor est un acarien ectoparasite qui se nourrit et vit parmi les abeilles mellifères, *Apis mellifera* (Vilarem et al., 2021).

Le Varroa, à la fois à ses stades juvéniles et adultes, se nourrit de l'hémolymphe des abeilles, provoquant des anomalies morphologiques. Il transmet également des virus, des bactéries et des champignons : Cet acarien est responsable de la varroase, une maladie parasitaire touchant les abeilles mellifères.

Cet acarien est aptère, anophtalme et incapable de se déplacer entre les ruches des abeilles très éloignées. C'est un ectoparasite phorétique qui se déplace d'une colonie à une autre en étant transporté par l'abeille et ne peut se développer que sur des hôtes autres que l'abeille (Peck and Seeley, 2019).

Néanmoins, les efforts de surveillance montrent que les colonies d'abeilles sont presque universellement infestées (Traynor et al., 2016).

Les colonies d'abeilles infestées se caractérisent par une certaine d'échec et une production réduite d'adultes et de colonies plus petites (Elzen et al., 2001; GLINSKI and JAROSZ, 1984; Gliński and Jarosz, 1992).

2. Historique de l'invasion du parasite

Edward Jacobson a découvert un acarien parasite sur les abeilles, *Apis cerana* de l'île de Java en Indonésie. Ce parasite a été décrit pour la première fois par Oudemans, qui l'a nommé *Varroa jacobsoni*; nommé en l'honneur de son découvreur (Oudemans, 1904).

Selon Le Conte et Jeanne (1991), l'Indonésie a importé des abeilles, *Apis mellifera* d'Europe après la seconde guerre mondiale pour améliorer la productivité de l'apiculture.

En raison de l'interaction entre l'*Apis mellifera* et l'abeille asiatique indigène, l'*Apis cerana* ; *Varroa jacobsoni* a pu rapidement s'établir sur ce nouvel hôte.

Les exportations d'abeilles d'Indonésie vers l'Asie et le Japon ont conduit à l'établissement de nouveaux sites d'infection.

En 1967, le parasite s'est rapidement propagé en Europe de l'Est.

En 1971, il est apparu pour la première fois en Amérique du Sud au Paraguay et était d'origine japonaise **(de Guzman et al., 1997)**.

En 1981, des colonies d'abeilles infestées par les acariens Varroa ont été découvertes en Allemagne **(Ritter, W. and Ruttner, F., 1981)**.

En 1981, l'acarien Varroa s'est propagé sur presque tout le territoire algérien **(Cheraief and Tarhouni, 1997)**.

En 1982, il est apparu en France suite à une contamination en provenance d'Allemagne. L'ensemble du territoire français est signalé comme infesté six ans plus tard **(Noireterre, 2011)**.

En 1987, il est apparu pour la première fois en Amérique du Nord aux États-Unis dans l'État de Floride et était d'origine européenne **(de Guzman et al., 1997)**.

En 1989, les colonies d'abeilles de toutes les provinces canadiennes étaient infestées par ce parasite, à l'exception de Terre-Neuve **(de Guzman et al., 1997)**.

En 2000, Anderson et Trueman ont divisé l'espèce d'acariens connue sous le nom de *Varroa jacobsoni* en deux espèces distinctes. Le parasite responsable de la varroose chez l'abeille domestique, *Apis mellifera* est *Varroa destructor*, tandis que l'autre espèce qui parasite l'abeille, *Apis cerana* est *Varroa jacobsoni*. La relation entre le parasite et *Apis cerana* est maintenant dans un état d'équilibre, donc *Varroa jacobsoni* ne représente pas une menace pour *Apis cerana* à l'heure actuelle **(Wendeling, 2012)**.

Tableau 2: Différences entre *Varroa destructor* et *Varroa jacobsoni*.

	<i>Varroa destructor</i> (Anderson and Trueman, 2000)	<i>Varroa jacobsoni</i> (Oudemans, 1904)	Références
Abeille	<i>Apis mellifera</i>	<i>Apis cerana</i> (asiatique)	
Taille	Plus grand	Plus petit	(Delfinado-Baker and Houck, 1989)
Développement	Se reproduit dans le couvain des faux bourdons et des ouvrières	Se reproduit dans le couvain des mâles d' <i>Apis cerana</i> . Il infeste l'abeille asiatique et ne se reproduit pas sur <i>Apis mellifera</i> Européenne	(Anderson and Trueman, 2000) (Anderson, 1994)
Analyse de l'ADN	Différente de celle de <i>Varroa jacobsoni</i>	Différente de celle de <i>Varroa destructor</i>	(Anderson and Trueman, 1999)

3. Apiculture et *Varroa destructor* en Algérie

Un affaiblissement inhabituel et la mortalité des colonies d'abeilles ont été observés dans de nombreux pays du monde, y compris en Algérie (Adjlane et al., 2012; vanEngelsdorp and Meixner, 2010).

En 2010, l'Algérie comptait environ 1,2 million de colonies d'abeilles, mais le rendement est resté très faible. Les maladies incluses dans la liste des maladies apicoles notifiables en Algérie comprennent la varroose, la loque américaine et européenne, la nosebose et l'acariose. L'agent principal responsable de la mortalité des colonies d'abeilles en Algérie est *Varroa destructor* (Adjlane et al., 2012). Ce parasite est apparu en Algérie en 1981, dans les ruches de la région de Souk Ahras, provenant d'abeilles importées de Tunisie. La Tunisie, quant

à elle, a été infectée par des colonies d'abeilles importées de Roumanie (**Adjlane et al., 2012; Wilkinson and Smith, 2002**).

4. Nomenclature

Le genre *Varroa* est composé de quatre espèces : *Varroa jacobsoni*, (**Oudemans, 1904**), *Varroa underwoodi* (**Delfinado-Baker & Aggarwal, 1987**), *Varroa rindereri* (**De Guzman and Delfinado-Baker, 1996**) et *Varroa destructor* (**Anderson and Trueman, 2000**).

Seul *Varroa destructor* est présent en Europe, les autres espèces étant parasites d'abeilles asiatiques.

Les deux espèces les plus connues sont : *Varroa jacobsoni*, parasite d'*Apis cerana* et *Varroa destructor*, parasite d'*Apis mellifera* (**Giovenazzo, 2014**).

Varroa destructor (**Anderson and Trueman, 2000**) est un acarien dont la cladogenèse en débutant avec les Euarthropodes: Euarthropodes, Chélicérates, Arachnides, Acariens, Mesostigmata, Varroidae, *Varroa destructor*.

Embranchement : Arthropodes

Sous embranchement : Chélicérates

Classe : Arachnides

Sous classe : Acariens

Ordre : Mésostigmates

Famille : Varroidae

Genre : *Varroa*

Espèce : *Varroa destructor* (**Anderson and Trueman, 2000**).

5. Morphologie du parasite

Varroa destructor présente un dimorphisme sexuel à l'état adulte.

La femelle adulte, appelée fondatrice, mesure 1.6mm de largeur et 1.1mm de longueur. Elle est de forme ovale et sa cuticule est de couleur rouge foncé.

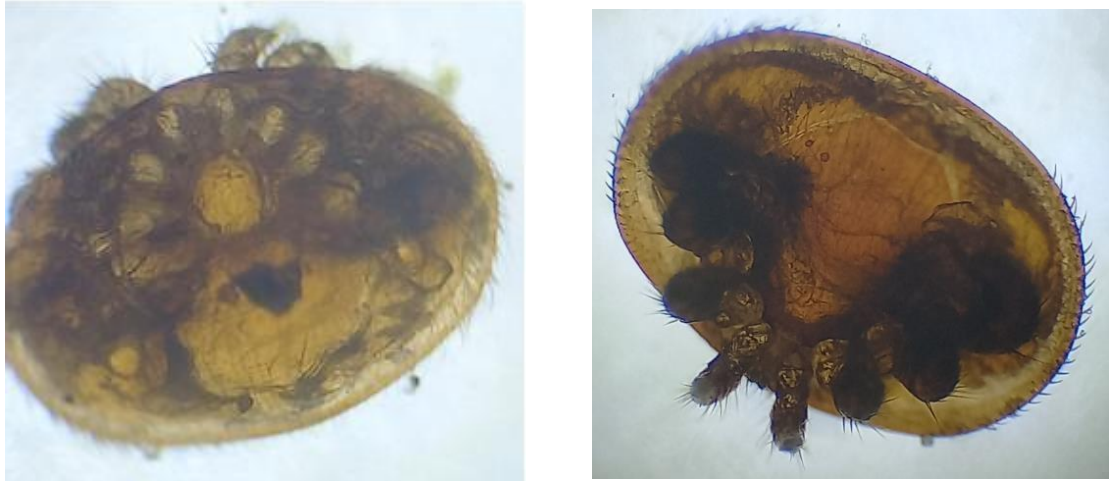


Figure 27: Vue dorsale (à gauche) et ventrale (à droite) d'une femelle adulte (**Belhadji, 2023**).

Le mâle est de forme ovoïde et mesure environ 0,7 - 0,9 mm de longueur par 0,7 - 0,8 mm de largeur. Il est nettement plus petit et d'un blanc crème. (**Mondet et al., 2016**).

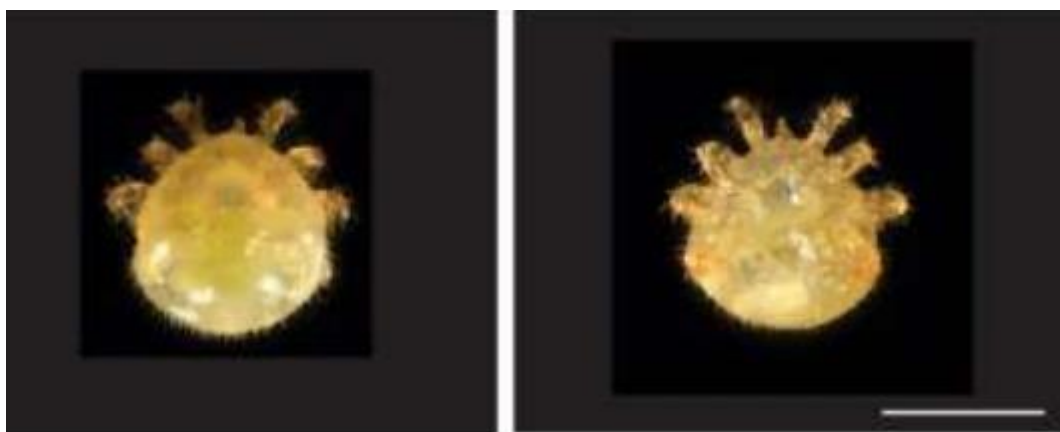


Figure 28: Vue dorsale (à gauche) et ventrale (à droite) d'un mâle adulte (**Mondet et al., 2016**).

Chez les acariens, l'ontogénèse se divise en six stases : la prélarve, la larve, la protonymphe, la deutonymphe, la tritonymphe et l'adulte. Tandis que la prélarve et la tritonymphe ont disparu chez les Varroas. Le passage au stade adulte se fait uniquement dans du couvain operculé et se fait en 154 heures pour le mâle (environ six jours et demi) et 134 heures pour la femelle (environ cinq jours et demi) (**Fernandez, 2002; Lhomme, 1990**).

La larve est immobile, elle ne se nourrit pas, donc elle ne peut pas éclore. Pendant ce temps, elle demeure dans l'enveloppe de l'œuf et commence à se développer 24 heures après sa ponte. Le corps de la larve est piriforme, de 0,5 mm de large et 0,7 mm de long (**Fernandez, 2002; Lhomme, 1990**).

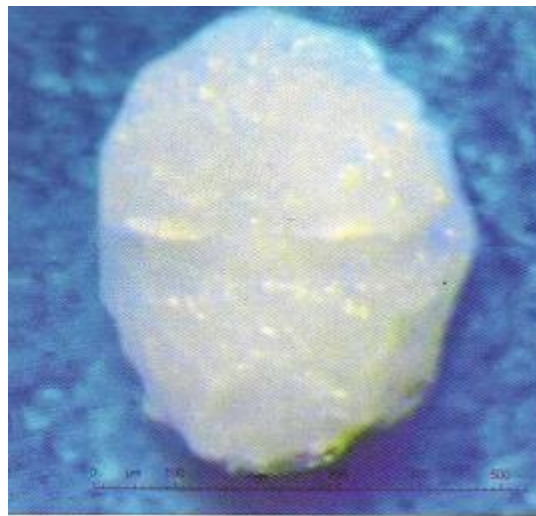


Figure 29: Vue ventrale de la larve (**Fernandez, 2002**).

La protonymphe est une jeune femelle blanche et ronde. Elle se transforme en une deutonymphe plus ovale. La cuticule de la deutonymphe évolue au fil du temps jusqu'à sa maturité sexuelle (**Mondet et al., 2016**).

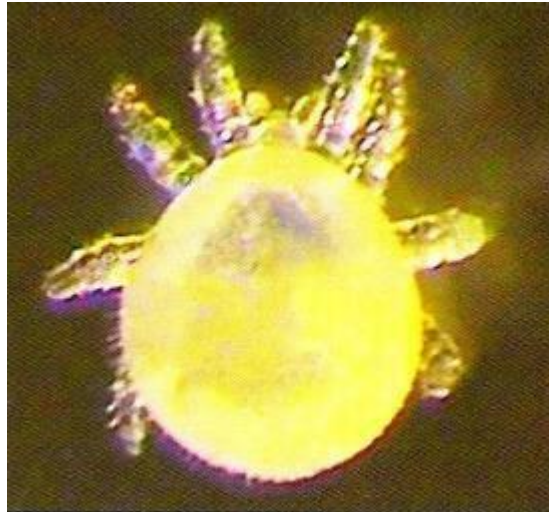


Figure 30: Vue dorsale d'une protonympe femelle (Fernandez, 2002).

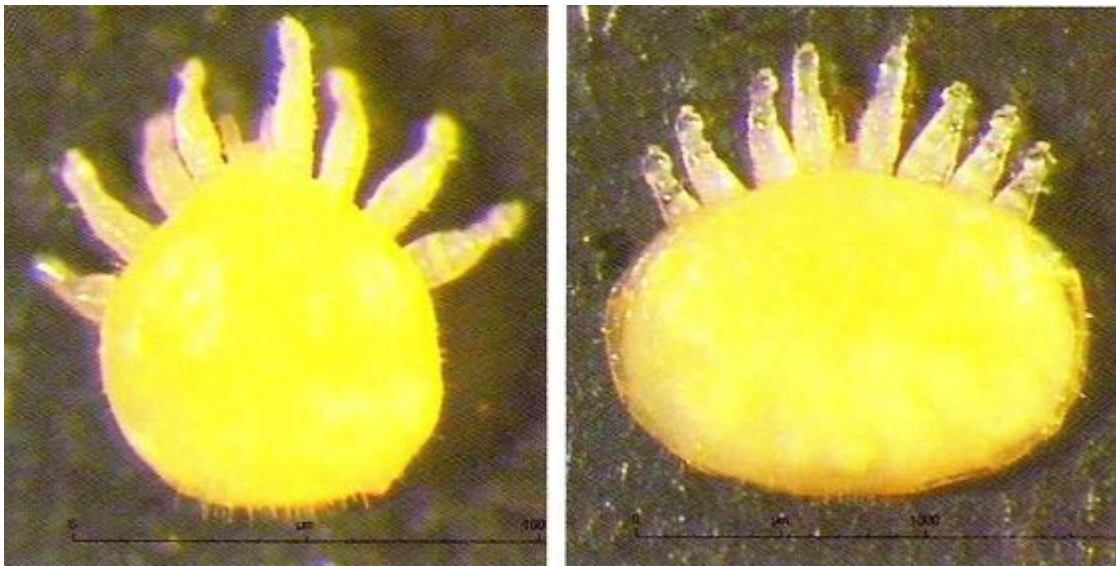


Figure 31: Deutonymphe mâle à gauche ; deutonymphe femelle à droite (vues dorsales) (Fernandez, 2002).

6. Cycle de vie

Le Varroa a un cycle de vie qui dépend de celui de l'abeille. Le Varroa ne vit que quelques heures sans l'hôte (Guzman et al., 2006). Le Varroa se nourrit en perforant le tégument de l'abeille adulte ou des nymphes et en absorbant une grande quantité d'hémolymphe ou de corps gras (Donzé and Guerin, 1994).

La femelle Varroa a deux phases distinctes :

1- La phase de reproduction : elle se déroule à l'intérieur des cellules du couvain d'abeilles, où un acarien fondateur élève ses petits.

2- La phase phorétique (phase de dispersion) : c'est la phase où les acariens femelles matures se déplacent et se nourrissent d'abeilles adultes (**Traynor et al., 2020**).

6.1. Phase de reproduction

Au cours de cette étape, les Varroas se trouvent dans les alvéoles de couvain d'ouvrière ou dans celles de mâle. Le couvain mâle est infesté huit fois plus souvent que le couvain d'ouvrière (**Fuchs, 1992**).

Au dernier stade de développement, les femelles Varroa infestent les alvéoles contenant des larves, ce qui peut prendre 15 à 20 heures pour le couvain d'ouvrière ou deux jours (40 à 60 heures pour le couvain de mâle) avant l'operculation de l'alvéole (**Boot et al., 1992**).

Environ 60 heures après l'opération, la femelle pond son premier œuf, qui se transforme en mâle. Toutes les 30 heures suivantes, les œufs pondus se transforment en femelles (**Martin, 1994**). La croissance des descendants de Varroa se déroule en deux étapes : la protonymphe et la deutonymphe. Le développement dure environ 5 à 8 jours pour les mâles et les femelles. Au cours du développement, les femelles immatures et les mâles sont complètement dépendants de la femelle adulte, car leurs chélicères ne sont pas suffisamment solides pour percer la cuticule de l'abeille.

Les Varroas s'accouplent dans les alvéoles operculées avant l'apparition de l'abeille adulte. Le mâle est le premier à atteindre la maturité sexuelle et s'accouple avec les jeunes femelles adultes. Lorsque l'abeille émerge, elle découpe son alvéole et en général laisse une ou deux filles matures, tandis que les filles immatures et le mâle meurent dans l'alvéole. Les femelles adultes jeunes quittent l'alvéole de couvain et infestent rapidement des nourrices, ce qui leur permet d'être transportées jusqu'à une nouvelle alvéole de couvain qui est sur le point d'être operculée. En général, les femelles varroa effectuent 2 à 3 cycles de reproduction tout au long de leur vie (**Fries and Rosenkranz, 1996**).

6.2. Phase phorétique

Pendant la phase phorétique, les Varroas se trouvent sur les abeilles adultes, ce qui permet au Varroa de se disperser au sein de la colonie et à l'extérieur de cette dernière. La femelle Varroa est le plus souvent retrouvé au niveau des segments abdominaux de l'abeille (Kuenen and Calderone, 1997).

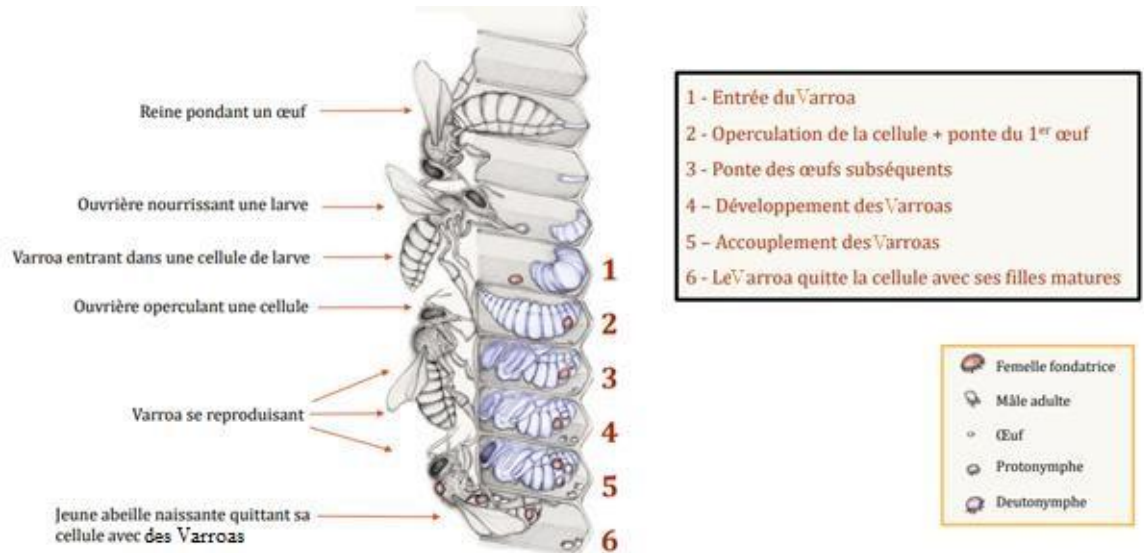


Figure 32: Cycle de développement du Varroa (Girard, n.d.).

7. Nutrition

L'hémolymphe des abeilles est le seul aliment de tous les stades de Varroa. Seules les femelles adultes sont capables de survivre sur les abeilles adultes en se nourrissant entre les sternites de leurs hôtes. Les autres formes, mâles et immatures, vivent dans le couvain.

Au stade prénymphose de l'abeille, la femelle fondatrice réalise de petits repas à peu de temps d'intervalle. Pendant le stade nymphose, elle se nourrit moins souvent mais effectue des repas plus longs. A ce stade, elle perce la cuticule de la nymphe, au niveau du cinquième segment du corps à l'aide de ces chélicères. Cet endroit devient la zone de nourriture qui sera utilisée par la fondatrice et ses descendants pour se nourrir. Ainsi, les mâles immatures, dont les chélicères ne sont pas adaptés pour percer la cuticule de la nymphe, peuvent se nourrir (Fernandez, 2002).

8. Perception chimique et thermique

Varroa destructor possède un système sensoriel composé de nombreuses soies sensorielles, les sensilles, qui sont réparties sur tout le corps et qui portent des chémorécepteurs de contact et olfactifs ainsi que des mécanorécepteurs.

Il existe également de nombreux pores qui sont des chémorécepteurs. La cuticule est constituée d'organes appelés lyrifissures, qui sont des mécanorécepteurs.

La préférence des femelles fondatrices pour le couvain de faux-bourçons est due à la différence de température ambiante : 58 % des Varroas préfèrent des températures de 30 à 34°C (couvains de faux-bourçons) et 34 à 36°C pour les couvains d'ouvrières. De plus, les températures inférieures à 28°C ou supérieures à 37°C ont un impact sur la reproduction de *Varroa* (Fernandez, 2002).

9. Sources de contamination

Les autres colonies infestées représentent la première source de contamination.

La source de contamination est bien la ruche infestée et non les produits de la ruche car ils sont des milieux dysgénésiques pour le parasite.

Le couvain operculé des colonies traitées est également une source de contamination, car il protège les parasites des traitements acaricides. Les mauvais traitements engendrent des colonies qui pourraient être dangereuses pour le reste du rucher.

La contamination peut provenir du milieu extérieur : la femelle *Varroa* peut survivre entre deux et dix jours dans le milieu extérieur en fonction de la température et de l'hygrométrie.

Ainsi, on peut les trouver sur le matériel apicole (notamment lors de la récolte), sur une fleur, sur d'autres insectes (bourçons, guêpes) ou encore dans les ruches après effondrement de la colonie (Treilles, 2002).

10. Mode de transmission

Le parasite *Varroa destructor* est un phorétique. La varroase passe d'une ruche à une autre, voire d'un rucher à un autre. Cela peut être causé par des éléments naturels tels que la dérive des butineuses, l'essaimage et le pillage, ou des éléments apicoles tels que la transhumance et les échanges entre les apiculteurs (Anderson, 1988; Bernard, 2003; Treilles, 2002).



Figure 33: Varroa phorétique (Belhadji, 2023).

11. Distribution de la population du parasite dans la colonie et dispersion

Le parasite se répartit de manière hétérogène entre le couvain et les abeilles adultes. En été, le *Varroa destructor* est en phase de reproduction dans le couvain ce qui rend impossible à l'apiculteur de l'observer.

En présence de couvain de mâles (du début du printemps au début de l'été), Il y a une différence plus importante de proportion entre le nombre de Varroas sur abeilles adultes, dans le couvain d'ouvrières et dans le couvain de faux-bourçons. En hiver, la quasi-totalité des Varroas sont en phase phorétique (Traynor et al., 2020).

12. Dynamique de la population de *Varroa destructor*

La dynamique de population de *Varroa* dépend de la dynamique de population du couvain et des abeilles adultes.

En mars, la reine débute généralement sa ponte. Le *Varroa* débutera sa reproduction dès l'apparition des premiers couvains. En juin, la reine ralentit sa ponte réduisant ainsi la quantité de couvain. Le nombre de *Varroas* dans la colonie ne cesse d'augmenter. En hiver, la reine ralentit voire stoppe la ponte et la population de *Varroas* se stabilise. La croissance du *Varroa* dans la colonie se poursuivra chaque année jusqu'à ce que la colonie s'effondre en raison d'une charge de *Varroa* trop élevée (Calis et al., 1999; Martin, 1998).

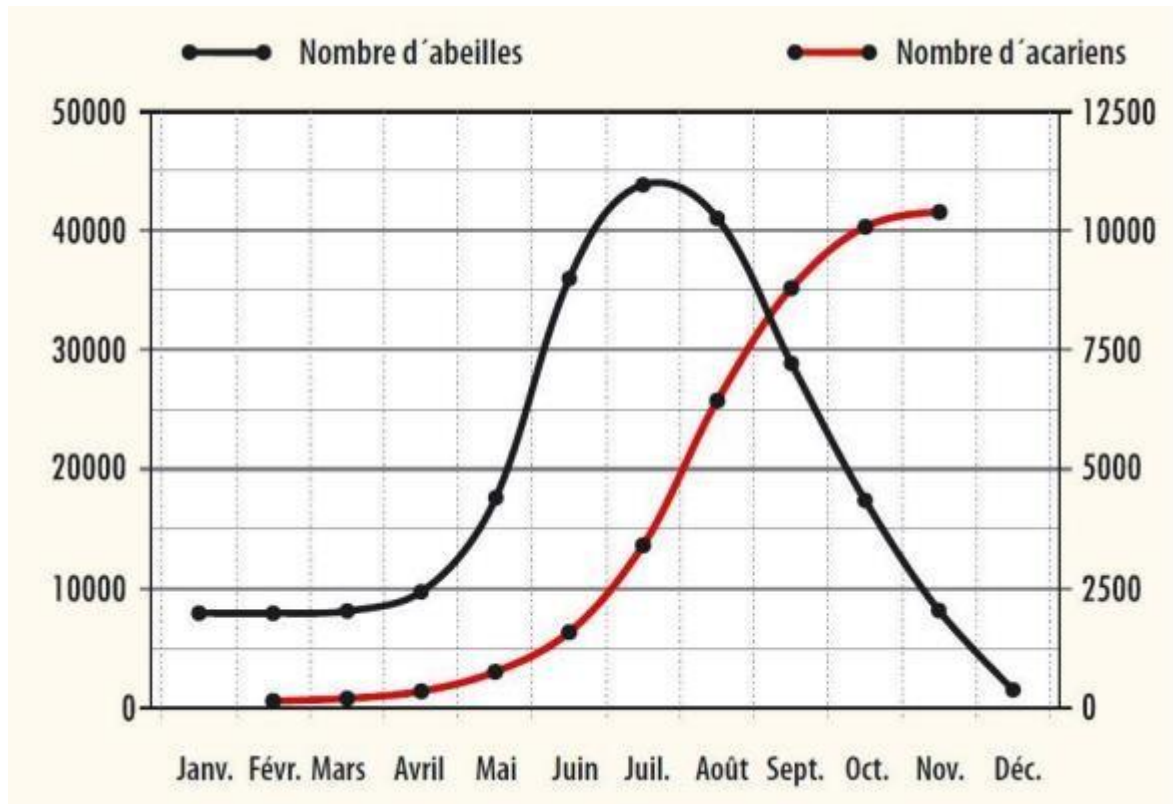


Figure 34: Dynamique de population de l'abeille mellifère et du *Varroa* modélisé (Wolfgang, 2018).

13. Impact du parasite sur les abeilles mellifères

13.1. A l'échelle individuelle

Le *Varroa destructor* se nourrit des corps gras des abeilles qui constituent un stock de graisse et assurant un bon fonctionnement immunitaire et hormonale de ses dernières (**Ramsey et al., 2019**).

Le parasite cause une réduction des protéines et de la vitellogénine (**Amdam et al., 2004; Faucon and Chauzat, 2008; Ramsey et al., 2019; Yang and Cox-Foster, 2005**) ainsi qu'une modification des régulations hydriques. Cela implique une immunodéficience et une diminution de la fécondité et de l'espérance de vie des abeilles. Le *Varroa* cause des modifications morphologiques et comportementales observables (taille petite, ailes déformées, gêne dans le vol) (**Annoscia et al., 2015; Zanni et al., 2018**).



Figure 35: Ailes déformées d'une abeille infestée par le *Varroa destructor* (**Riondet et al., 2013**).

13.2. A l'échelle de la colonie

Un affaiblissement général de la colonie est notable : diminution significative dans le nombre des abeilles voir un effondrement de la colonie ; et par suite une diminution de la production du miel (**Di Prisco et al., 2011; Kretzschmar et al., 2016**).

L'effondrement d'une colonie se produit généralement pendant la saison hivernale. En effet, si la colonie est très infestée pendant la période de développement des abeilles d'hiver, le

risque d'effondrement pendant l'hiver est plus élevé (**Amdam et al., 2004; Dooremalen et al., 2012; Wegener et al., 2016**).

13.3. Varroa, vecteur de maladie

Varroa destructor transmet plusieurs agents pathogènes viraux, fongiques et bactériales lorsqu'il ponctionne l'hémolymphe :

- ✓ DWV (Deformed Wing Virus) : virus des ailes déformées.
- ✓ IAPV (Israeli Acute Paralysis Virus) : virus israélien de la paralysie aiguë.
- ✓ ABPV (Acute Bee Paralysis Virus) : virus de la paralysie aiguë.
- ✓ KBV (Kashmir Bee Virus) : virus de l'abeille de cachemire.
- ✓ CBPV (Chronic Bee Paralysis Virus) : virus de la paralysie chronique
- ✓ SPV (Slow Paralysis Virus) : virus de la paralysie lente.
- ✓ BQCV (Black Queen Cell Virus) : virus de la cellule royale noire.
- ✓ CWV (Cloudy Wing Virus) : virus des ailes opaques.
- ✓ SBV (Sacbrood Bee Virus) : virus de couvain sacciforme.
- ✓ *Aspergillus flavus* : champignon ascomycète.
- ✓ *Ascosphaera apis* : champignon ascomycète.
- ✓ *Paenibacillus larvae* : bactérie responsable de la maladie appelée la loque américaine (**Boucher, 2016**).

14. Conditions propices et néfastes pour le parasite

La présence d'une forte miellée, une alimentation sucrée et un climat méridional favorisent la prolifération du parasite. Ceci est en relation directe avec le développement du couvain qui favorise celui des Varroas.

Dans le département français du Var, les abeilles cultivent du couvain pratiquement toute l'année. Une colonie peu développée au début de l'année peut être affaiblie en automne en raison du nombre de parasites.

Au contraire, l'arrêt du couvain par le repos de la végétation pendant l'été, l'essaimage

artificielle par orphelinage, le changement de reine chaque année ou tous les 2 ans, entravent la progression du Varroa (**Jean-Prost and Le Conte, 2005**).

15. Dépistage

Le dépistage sert à déterminer le taux d'infestation de *Varroa destructor* dans la ruche ou dans le rucher et par suite la mise en place des stratégies de lutte efficaces.

De nombreuses méthodes permettent d'estimer le nombre de Varroa.

La méthode appelée « des langes » implique de mesurer le nombre de *Varroa destructor* qui sont tombés de manière naturelle sur un lange graissé et placé sur le sol d'une ruche à fond grillagé. Ensuite, il faut établir une moyenne des chutes quotidiennes sur une période de plusieurs jours. Cette méthode manque de précision.

Une méthode est d'appliquer un acaricide en une seule fois, puis de compter le nombre de parasites tombés.

Si le traitement est effectué en présence de couvain, ce traitement ne s'appliquera qu'aux acariens phorétiques et non aux acariens en phase de reproduction dissimulés dans le couvain. Donc la méthode n'est pas précise.

On peut aussi estimer le nombre de parasites présents en ouvrant environ 200 cellules operculées de mâles et d'ouvrières. Cette méthode est précise, mais destructrice, et on l'emploie surtout en sélection.

Une formule d'estimation rapide du nombre d'acariens en fonction de la saison existe.

Ainsi, le nombre d'acariens en été est égal à :

- ✓ $((\text{nombre de cellules de faux-bourçons operculées infestées} \div \text{nombre de cellules de faux-bourçons de l'échantillon}) \times \text{nombre de cellules de faux-bourçons dans une colonie}) \times 10$
- ✓ $((\text{nombre de cellules d'ouvrières operculées infestées} \div \text{nombre de cellules d'ouvrières operculées de l'échantillon}) \times \text{nombre de cellules d'ouvrières operculées dans une colonie}) \times 1,8$

- ✓ ou alors, $((\text{nombre d'abeilles adultes infestées} \div \text{nombre d'abeilles de l'échantillon}) \times \text{nombre total d'abeilles dans une colonie}) \times 2,9$

En hiver, la formule d'estimation est la suivante : $((\text{nombre d'abeilles adultes infestées} \div \text{nombre d'abeilles de l'échantillon}) \times \text{nombre total d'abeilles dans une colonie})$.

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour séparer le parasite fixé sur les abeilles adultes :

- ✓ Lavage de l'échantillon avec un détergent.
- ✓ Lavage de l'échantillon avec de l'éthanol.
- ✓ Lavage de l'échantillon avec de l'eau savonneuse.
- ✓ En saupoudrage de sucre glace sur l'échantillon d'abeilles, puis secouage de l'ensemble (cette méthode a l'avantage de préserver à peu près correctement les abeilles).
- ✓ Gazage réversible des abeilles de l'échantillon avec du CO₂.

(Boucher, 2016).

16. Lutte contre le *Varroa destructor*

16.1. Lutte chimique

De nombreux produits chimiques sont employés pour lutter contre le *Varroa destructor* (Baggio et al., 2004; Genç and Aksoy, 1992; Milani, 1999).

Les traitements sont à base des acaricides chimiques citant l'Amitraz, le Tau – fluvalinate, le Coumaphos (Floris et al., 2001; Harbo and Harris, 1999).

Le parasite a développé des résistances contre ces molécules chimiques et les résidus de ces produits ont été trouvés dans le miel et la cire (Kuenen and Calderone, 1997; Pérez-Santiago et al., 2000; Wallner, 1999).

16.1.1. Tau – fluvalinate

Composé synthétique, lipophile et non volatil, un cyano-pyréthrinoïde qui agit par contact.

Il présente une toxicité modérée pour l'abeille (DL₅₀ = 8,78 µg/abeille).

On trouve des traces dans les miels et il s'accumule malheureusement dans les cires car il n'existe actuellement aucun moyen d'épuration de ces dernières.

Les contaminations peuvent entraîner l'émergence de résistances chez *Varroa destructor*, tandis que chez l'hôte. L'association de Tau-fluvalinate, présent à des doses sublétales pour l'abeille, avec d'autres résidus phytopharmaceutiques ou des agents pathogènes peut former un cocktail dangereux pour la colonie d'abeilles (**Boucher, 2016**).

D'après (**Milani, 1999**), la première résistance a été développée en laboratoire en Italie. En quelques années, l'utilisation massive de tau-fluvalinate a entraîné l'émergence de la résistance de *Varroa* au Tau-fluvalinate (**Trouiller, 1998**). En même temps, on constate une baisse significative de l'efficacité des traitements sur le terrain (**Faucon et al., 1995; Floris et al., 2001**). En quelques années, on observe de manière hétérogène les foyers de résistance en Europe (**Floris et al., 2001; Gracia-Salinas et al., 2006; Lipiński et al., 2007; Thompson et al., 2002**), aux États-Unis (**Elzen et al., 1999**) en Afrique du Sud (**Maggi et al., 2008**) au Moyen-Orient (**Miozes-Koch et al., 2000**).

16.1.2. Amitraz

Il s'agit d'une formamidine qui agit en contact. Si elle est liposoluble, elle ne s'accumule ni dans les miels ni dans les cires en raison de sa volatilité et de son instabilité.



Figure 36: Apivar (Amitraz) (Belhadji, 2023).

L'Amitraz est historiquement l'une des premières molécules utilisées contre *Varroa destructor*. Il a d'abord été utilisé pour fumiger, à l'aide d'un diffuseur d'aérosol. Par la suite, elle a été utilisée à froid sur un linge graissé et laissé à l'intérieur de la ruche. Finalement, les lanières à libération continue sont apparues.

Les États-Unis ont découvert la première résistance à l'Amitraz en 1999 (**Elzen et al., 1999**).

Une première étude réalisée en France a démontré une baisse de l'efficacité d'Amitaz en laboratoire en évaluant le temps d'exposition nécessaire pour éliminer les Varroas (**Mathieu and Faucon, 2000**).

Ensuite, de nombreuses études ont révélé la résistance du Varroa à l'Amitraz (**Kamler et al., 2016; Maggi et al., 2011; Rodríguez-Dehaibes et al., 2005**).

Malgré ces observations en laboratoire, il n'a pas été constaté de diminution de l'efficacité des traitements à base d'Amitraz sur le terrain pendant des années. La première étude a montré des pertes d'efficacité des traitements à base d'Amitraz sur le terrain en Algérie il y a une vingtaine d'années (**Adjlane and Nizar, 2017**). Les études d'efficacité menées par la FNOSAD en France en 2018 et 2019 ont révélé les premiers échecs de traitement avec l'Amitraz.



Figure 37: Lanière entre deux cadres (Belhadji, 2023).

16.2. Acides organiques

16.2.1. Acide formique

C'est un composé naturellement présent dans les miels. Il est hydrophile, extrêmement volatil, et ne se retrouve ni dans le miel ni dans la cire par accumulation. Il s'agit du seul acaricide qui, à une dose élevée, peut anéantir le *Varroa destructor* dans les cellules de couvain operculées.

L'inconvénient de cette molécule est qu'elle peut provoquer un arrêt de la ponte lors de l'application, des pertes de reines et la mort du couvain (**Boucher, 2016**).

16.2.2. Acide oxalique

On le retrouve naturellement dans certains miels et dans de nombreuses plantes. Il n'est ni volatil ni soluble dans l'eau. Quand le traitement est effectué conformément aux instructions, les valeurs observées dans les miels sont de la même taille que les valeurs observées naturellement.

L'acide oxalique est efficace contre *Varroa destructor*. Il doit être utilisé quand il n'y a pas de couvain dans la colonie ou quand la quantité de couvain à son niveau le plus bas, c'est-à-dire en hiver (l'acide oxalique ne pénètre pas dans la cire et ne tue pas les parasites à l'intérieur du couvain operculé) (**Boucher, 2016**).

16.3. Huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent une alternative avec une bonne activité acaricide (**Gashout and Guzmán-Novoa, 2009**).

Le thymol est commercialisé depuis les années quatre-vingt-dix (**Imdorf et al., 1999**). C'est une molécule extraite des huiles essentielles de Thym.

Malheureusement, il s'accumule dans la cire ; le fait de provoquer des conséquences sublétales pour les abeilles (**Floris et al., 2004**), telles qu'un taux de survie des larves faible, une expression retardée de la vitellogénine (**Charpentier et al., 2014**) ou des altérations de traces de mémoire spécifiques (**Chapuy et al., 2019**).

L'association du thymol aux récepteurs de la dopamine provoque une irritation chez les abeilles et peut influencer le goût du miel (**Blenau et al., 2012; Mondet et al., 2011**). En outre,

cela incite les abeilles à adopter un comportement hygiénique plus rigoureux (**Colin et al., 2019**).

16.4. Méthodes biotechniques

Le piège du Varroa par le couvain de miel, également connu sous le nom de retrait de couvain de miel.

Au printemps, l'apiculteur ajoute volontairement des cadres mâles afin de capturer les Varroas de début de saison dans le couvain de mâles. Ensuite, avant que les mâles ne commencent à apparaître, l'apiculteur retire le couvain des mâles des colonies. Cette méthode est réalisée à trois reprises d'avril à juin afin d'améliorer son efficacité. Elle permet de réduire l'infestation à court terme. En effet, les colonies devront être traitées en fin de saison (**Cahier, 2019; Charrière et al., 2003**).

16.5. Méthode de contrôle thermique

L'objectif de cette méthode est de tuer les Varroas en utilisant la chaleur (**Wolfgang, 2018**).

Effectivement, de nombreuses recherches ont démontré l'impact de la température sur le comportement du Varroa (**Le Conte et al., 1990; Le Conte and Arnold, 1987**).

On place les cadres de couvain sans les abeilles dans une cuve et on le fait chauffer à une température de 42°C pendant quelques minutes. La température actuelle tue les Varroas mais préserve le couvain. Par la suite, les cadres sont repositionnés dans la ruche. Il sera nécessaire d'utiliser un traitement à base d'acide oxalique afin de supprimer les Varroas qui étaient en phase phorétique. Cette technique est une alternative à l'utilisation d'acide oxalique, ce qui permet d'éviter l'encagement de la reine ou la destruction du couvain (**“Conférence FNOSAD,” 2020**).

III. Huile essentielle

1. Généralités

Depuis les temps les plus anciens, le monde végétal fournit les ressources essentielles à la survie de l'humanité (**Hammoudi, 2015**).

En effet, les végétaux restent la principale source de substances actives dont le rôle et l'usage sont très divers.

La phytothérapie désigne la thérapie basée sur les plantes. On peut la trouver sous de nombreuses formes (tisanes, extraits secs ou liquides, macérats, sirops, suspensions intégrales de plantes fraîches), mais elle est restreinte car les extraits de plantes ne peuvent se dissoudre que dans l'eau, l'alcool. L'aromathérapie est évidemment une branche de la phytothérapie, car elle consiste à se soigner à l'aide de plantes. Cependant, en aromathérapie, on ne consomme que la partie volatile et étherée de la plante (**Festy, 2018**).

Grâce aux avancées de la science d'analyse, de nouveaux éléments actifs et de nouvelles caractéristiques pharmacologiques ont été utilisés pour transformer les huiles essentielles en véritables médicaments. Plusieurs composés volatils sont désormais utilisés dans les préparations pharmaceutiques.

Les huiles essentielles sont incroyablement efficaces ; il y a plus de 17 000 études scientifiques de très haut niveau, toutes publiées dans des revues médicales accessibles sur le site internet très fiable qui regroupe toutes les recherches médicales internationales publiées, c'est-à-dire approuvées par des experts indépendants (**Festy and Pacchioni, 2016**).

À l'heure actuelle, les huiles essentielles rencontrent un grand succès à travers le monde. Elles se révèlent particulièrement efficaces dans presque tous les secteurs de la médecine tant en thérapeutique qu'en préventive ; le domaine pharmaceutique, cosmétique, parfumerie et agroalimentaire (**Pieri, n.d.**).

2. Définition

Une huile essentielle correspond à la substance volatile odorante extraite des végétaux. Il s'agit du parfum réel de la plante, une véritable essence. On l'extrait de diverses parties d'un végétal : les feuilles, les fleurs, l'écorce, le zeste et bien d'autres encore : les graines, les baies, les fruits, le bulbe (**Festy, 2018**).

Les huiles essentielles se présentent sous forme liquide. Elles contiennent de l'huile, mais à la différence des huiles végétales, elles ne contiennent pas de graisse car elles s'évaporent. Chaque huile essentielle est unique, possède son odeur et ses caractéristiques spécifiques (**Festy, 2018**).

Comme les plantes ne pouvaient pas se déplacer pour se mettre à l'abri, il leur était nécessaire de créer un système de protection très efficace, antibiotique. Pour cela, elles ont conçu l'aromathérapie. Les huiles essentielles leur permettent de séduire les insectes pollinisateurs, de se prémunir contre les brûlures solaires, les prédateurs et les maladies, et de guérir les blessures et les diverses attaques (**Festy, 2018**).

La composition biochimique d'une huile essentielle est composée de différentes molécules telles que des alcools, des terpènes, des phénols, des éthers, des cétones et des acétates. C'est l'ensemble de ces molécules qui confère à l'huile essentielle ses propriétés thérapeutiques (**Garcia, n.d.**).

3. Principales utilisations des huiles essentielles

3.1. En médecine

Les huiles essentielles possèdent de multiples vertus médicinales ; des propriétés antiseptiques, antibactériennes, antifongiques, antiparasitaire, antivirales, anti-inflammatoires et antispasmodique. Elles possèdent des propriétés cicatrisantes, circulatoires, digestives et régulation métabolique.

Elles sont fréquemment utilisées comme substitut aux antibiotiques et sont très efficaces dans la lutte contre certaines infections pulmonaires, intestinales, cutanées ou urinaires (**Buronzio, 2008**).

3.2. En pharmacie

Depuis des milliers d'années, les êtres humains ont recours aux huiles essentielles et, plus largement, aux plantes aromatiques pour se soigner.

Il est crucial de distinguer clairement l'utilisation traditionnelle des huiles essentielles, où elles sont utilisées telles quelles à des fins thérapeutiques et des utilisations dans l'industrie pharmaceutique également.

Les huiles essentielles sont également utilisées dans l'industrie pharmaceutique sous diverses formes (complexes à vaporiser, pastilles, gélules, dentifrices, etc.).

La pharmacopée européenne compte 7 huiles essentielles : huile essentielle d'Anis, d'Eucalyptus, de Clou de girofle, de Fleur d'oranger amer, de Lavande, de Menthe poivrée, de Thym. Les propriétés pharmacologiques qu'ils possèdent leur confèrent une application dans le domaine médical (**Garneau et al., 2005**).

3.3. Sur le plan psychologique

Sur le plan émotionnel et psychologique, l'aromathérapie a démontré sa capacité à apaiser, à calmer, à apaiser l'esprit, à évacuer le stress, à stimuler, à donner du tonus et de la vitalité (**Buronzo, 2008**).

3.4. En parfumerie et cosmétique

En cosmétologie et dans le domaine des produits d'hygiène, il est possible de constater la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo-pharmacologiques, les baies "calmants" ou "relaxants", ainsi que leur utilisation dans les rouges à lèvres, les shampoings et les dentifrices.

Les huiles essentielles les plus couramment utilisées sont les huiles essentielles de lavande, de citron et de jasmin.

Il est important de souligner qu'il existe une adsorption percutanée des composants terpéniques (acné, rides, couperose, etc.) ainsi que des cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, secs, gras, etc.) (**Buronzo, 2008**).

On les retrouve aussi dans des médicaments anti-inflammatoires pour la peau, les produits solaires et de nombreux produits d'ambiance tels que les liquides pour les pots-pourris **(Richardson, 1999)**.

3.5. Dans l'industrie agroalimentaire

Les huiles essentielles ont un impact essentiel sur l'aromatisation des aliments.

En effet, elles parfument les condiments (poivre, gingembre) et les arômes (menthe, ail, anis, oranger, thym, laurier). Elles sont aussi très appréciées dans le domaine de la liquoristerie (boissons anisées, kümmel) et de la confiserie (bonbons, chocolat, etc.) **(Teissedre and Waterhouse, 2000)**.

De nos jours, l'industrie agroalimentaire emploie les huiles essentielles dans les préparations surgelées non seulement pour améliorer le goût, mais aussi pour leur capacité antioxydante, ce qui leur permet de préserver les aliments et d'éviter la contamination en même temps que les conservateurs chimiques potentiellement toxiques (effet antimicrobien). Plusieurs plantes aromatiques, en particulier de la famille des Lamiacées, ont démontré leur efficacité pour préserver la viande ou certains plats préparés **(Fernandez and Chemat, 2012)**.

4. Mode de production des huiles essentielles

On obtient des huiles essentielles via plusieurs mode de production :

4.1. La distillation à la vapeur

La vapeur d'eau pénètre dans la plante afin d'en extraire les composés volatils. Ce procédé convient à presque tous les types de plantes ou parties de plantes **(Herbarom, n.d.)**.

Avec l'introduction ou la formation de vapeur d'eau dans le vase d'entraînement, l'huile essentielle présente dans la plante est chauffée, détachée du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. La condensation des vapeurs hétérogènes sur une surface froide permet à l'huile essentielle de se séparer par décantation. Selon la densité de l'huile essentielle, elle peut être supérieure au distillat ou inférieure à celui-ci **(Farhat, 2010)**.

4.2. L'hydrodistillation

La méthode implique une distillation à la vapeur pendant que la plante est immergée dans l'eau. Son hydrolyse est plus importante que celle de la distillation à la vapeur, mais elle convient à tous les produits, même les plus difficiles à extraire (**Herbarom, n.d.**).

On procède en plongeant directement la matière première végétale dans un dispositif de type Clevenger (**figure 38**) ou dans un alambic rempli à trois quarts d'eau, puis on l'échauffe à la pression atmosphérique. La structure des cellules végétales est détruite par les vapeurs, qui libèrent les molécules présentes dans ces cellules et entraînent les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La condensation des vapeurs hétérogènes dans un réfrigérant permet à l'huile essentielle de se séparer de l'hydrolat en raison d'une simple différence de densité, au-dessus de l'hydrolat (**Farhat, 2010**).

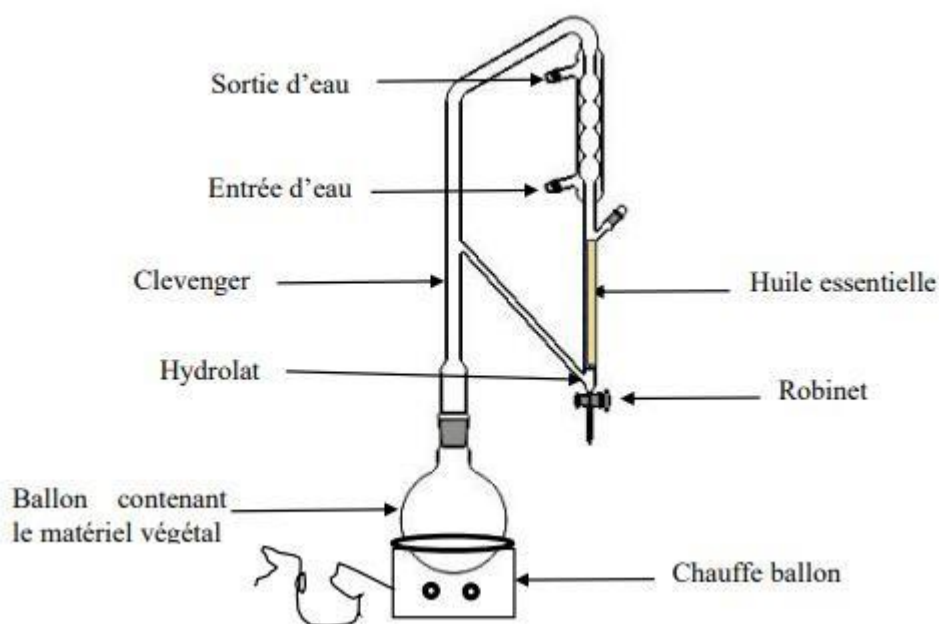


Figure 38: Schéma du dispositif d'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation avec un appareil de Clevenger (**Farhat, 2010**).

4.3. L'expression à froid

Il s'agit d'une méthode mécanique qui ne nécessite aucune hydrolyse, ce qui permet d'extraire des molécules volatiles tout en produisant également des non-volatiles. Il est spécialement conçu pour les épicarpes d'agrumes.

L'objectif est de briser les poches à essence en utilisant une méthode mécanique (pression, incision ou abrasion à froid). La séparation de l'huile essentielle avec l'eau cellulaire se fait soit par décantation, soit par centrifugation. À l'heure actuelle, il y a des machines qui extraient le jus de fruit et l'huile essentielle quasiment simultanément sans contact des deux extraits, ce qui évite les dégradations causées par l'action de l'eau (**Bruneton, n.d.**).

4.4. La distillation sèche

On utilise principalement cette technique pour la pyrolyse du bois, est principalement employée pour les bois résineux.

4.5. Extraction assistée par micro-ondes

La méthode implique l'exposition à des micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant qui absorbe fortement les micro-ondes (comme le méthanol par exemple) pour extraire les composés polaires ou en présence d'un solvant qui ne les absorbe pas (comme l'hexane) pour extraire les composés apolaires. L'ensemble est mis à chauffer sans jamais s'échauffer pendant de courtes périodes alternées par des périodes de refroidissement (**Wang et al., 2006**).

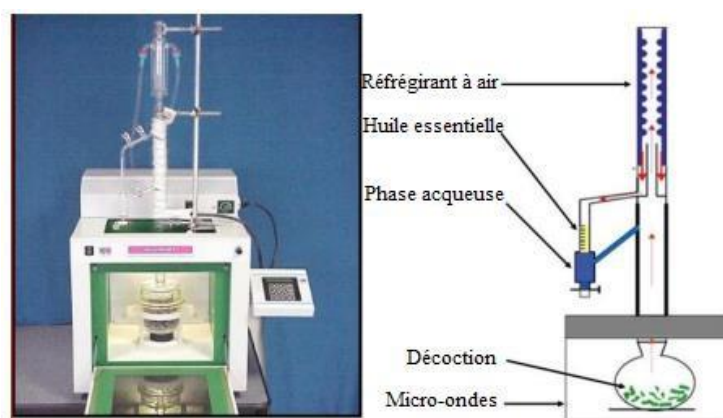


Figure 39: Dispositif d'extraction d'huile essentielle par micro-ondes (**Wang et al., 2006**).

5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles se distinguent par une composition chimique variée qui peut être analysée.

Il y a environ des milliers de composants isolés et il en reste encore beaucoup à découvrir. Ces composés font partie, presque exclusivement, de deux groupes dont les origines biogénétiques sont différentes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également inclure différents produits provenant du processus de dégradation impliquant des composants non volatils (**Vladimir Alexandrovich, 2003**).

5.1. Terpènes

Les terpènes sont une famille de substances très communes dans le monde végétal. Leur principale caractéristique structurale réside dans la présence d'une unité isoprénique composée de 5 atomes de carbone (C_5H_8).

La majorité des composés terpéniques sont divisés en deux sous-groupes principaux en fonction du nombre d'entités isoprènes : les monoterpènes, qui sont constitués de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), et les sesquiterpènes, qui sont constitués de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$).

Selon (**Bruneton Jean, 1999**), seuls les terpènes à faible masse moléculaire (mono- et sesquiterpènes) sont présents dans les huiles essentielles, ce qui leur confère une texture volatile et leur donne leur olfaction (**Pibiri, 2006**).

5.2. Monoterpènes

Les monoterpènes représentent les terpènes les plus courants et les plus simples de tous (**Latreche, 2021; Mayer, 2012**). Leurs composants constituent 90% des huiles essentielles (**Lakhdar et al., 2015**).

Les monoterpènes sont classés en trois catégories : les monoterpènes acycliques, les monoterpènes monocycliques et les bicycliques (**Guenez and Bakhouché, 2020**).

Ils jouent différentes fonctions telles qu'antiseptiques, stimulants digestifs, antiviraux et sont de puissants décongestionnants respiratoires et lymphatiques (**Attou, 2017**).

5.3. Sesquiterpènes

Il s'agit de composés issus d'hydrocarbures, formés par la combinaison de trois unités isoprènes, leur formule est $C_{15}H_{24}$ (**Djaalali and Bayoud, 2020**). Cependant, leur structure et leur fonction demeurent proches de celles des monoterpènes (**Lakhdar et al., 2015**).

Leur particularité réside dans les arômes produits par les plantes, ce qui leur confère un goût mordant "amer" (**Djazer, 2014**).

La classe la plus variée des terpènes est composée de différentes catégories structurales telles que les terpènes acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques (**Djebri and Douib, 2020**).

5.4. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques issus du phénylpropane (C_6-C_3), également connus sous le nom de composés phénoliques, sont généralement constitués d'allyles et de propényl phénols, ainsi que parfois d'aldéhydes (**Labioud, 2016**). Toutefois, on peut également trouver des composés en (C_6-C_1) dans les huiles essentielles, comme la Vanilline ou l'Athranilate de Méthyle (**Latreche and Mansor, 2021**). Leur présence est inférieure à celle des terpènes (**Guenez and Bakhouch, 2020**), avec un noyau aromatique qui est associé à une chaîne de trois carbones (**Mecheri and Hammouchène, 2020**).

Les composés aromatiques jouent un rôle crucial car ils sont souvent à l'origine des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles. Parmi les exemples, on peut mentionner l'Eugénol qui est responsable de l'odeur du Clou de girofle (**Touati and Mahmoudi, 2017**).

5.5. Composés d'origine divers

En raison de leur méthode d'extraction (**Touati and Mahmoudi, 2017**), les huiles essentielles peuvent renfermer différents composés aliphatiques, généralement de masse moléculaire affaiblie, qui peuvent être entraînés lors de l'hydrodistillation (**Menasri and Kais, 2021**).

Ces produits sont issus de la transformation de molécules non volatiles (**Labioud, 2016**), telles que les acides gras et les acides jasmoniques, ainsi que des terpènes tels que les ionones et d'autres composés (**Djebri and Douib, 2020; Latreche and Mansor, 2021**).

De plus, il s'agit de composés non spécifiques qui peuvent contenir des atomes d'azote ou de soufre dans leurs structures, mais ils sont souvent mal présents dans les huiles essentielles (Lamamra, 2018; Latreche and Mansor, 2021).

6. Famille des Rutacées

La famille des Rutacées compte environ 150 genres et 1 500 espèces, réparties dans le monde entier, mais principalement dans les régions tropicales et subtropicales (Botineau, 2010).

6.1. Généralités

On regroupe ces espèces en 15 genres, dont les plus importants sont : *Zanthoxylum*, qui compte 250 espèces d'Amérique, d'Afrique et d'Asie, *Melicope*, qui compte 150 espèces d'Indo-Malaisie jusqu'en Australie, *Agathosma*, qui compte 135 espèces d'Afrique du Sud, *Boronia*, qui compte 104 espèces d'Australie et de Nouvelle-Calédonie. Le genre *Citrus* comprend 16 espèces originaires du Sud et du Sud-Est asiatique, tandis que le genre *Ruta* compte 7 espèces réparties depuis la Méditerranée jusqu'en Asie.

La famille des Rutacées est riche en composés du métabolisme primaire : les glucides ; et riche en composés du métabolisme secondaire : les flavonoïdes, les acides phénols, les terpènes, les limonoïdes, les alcoïdes (Botineau, 2010).

Les six genres botaniques les plus connus des agrumes de la famille des Rutacées sont originaires d'Asie du Sud-Est : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*. Les agrumes *Fortunella* et *Poncirus* proviennent du nord de l'Est de la Chine, tandis que ceux du genre *Citrus* proviennent du sud entre l'Inde et l'Indonésie (Luro, 2015).

6.2. Systématique

Règne : Végétale

Embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicots

Sous classe : Archichlomydeae

Ordre : Geraniales (Rutales)

Famille : Rutaceae

Sous famille : Aurantioideae

Genre : *Citrus*, *Ruta*, *Fortunella*, et *Poncirus* (Praloran, 1971).



Genre *Citrus* (Belhadji, 2023).



Genre *Poncirus* (Bekkal Brikci, 2019)

Genre *Fortunella* (Belhadji, 2024)

Genre *Ruta* (Houas, 2021)

Figure 40: Différents genre de la famille des Rutacées.

6.3. Intérêts des Rutacées

Les Rutacées jouent un rôle essentiel dans divers secteurs.

Les résines des Rutacées sont inflammables, ce qui signifie que le bois de certaines espèces est utilisé comme carburant ou en torches sur le plan économique.

Les fruits des espèces du genre *Citrus* (orange, citron, pamplemousse, etc) sont principalement consommables dans le domaine alimentaire.

Les arbres et les plantes ornementales sont nombreux dans la famille.

En termes de médicaments et de cosmétiques, le *Citrus* est couramment employé dans le secteur de la parfumerie (Judd et al., 2002).

Le but de notre travail est de tester le pouvoir bioacaricides des plantes de la famille des Rutacées.

Les genres et les espèces qui font l'objet de notre étude sont :

- ✓ **Le genre *Ruta*** : Une plante utilisée comme plante thérapeutique par excellence. Nous avons testé le pouvoir bioacaricides des molécules de l'espèce *Ruta chalepensis*.
- ✓ **Le genre *Citrus*** : Regroupe la plupart des espèces d'agrumes cultivés. Les espèces qui font l'objet de notre étude sont *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* et *Citrus clementina*.
- ✓ **Le genre *Poncirus*** : Ne produisent pas de fruits consommables, mais sont utilisés comme porte-greffe car ils confèrent certaines résistances intéressantes. *Poncirus trifoliata* est l'espèce qui a fait l'objet de notre travail.
- ✓ **Le genre *Fortunella*** : Produisent des petits fruits qui se dégustent avec la peau. (Jacquemond et al., 2009).

Les fruits produits par les espèces de *Fortunella* sont connus par le nom « Kumquats » (Loussert, 1998).

Nous avons pris en considération les molécules extraites des huiles essentielles des espèces : *Fortunella japonica*, *Fortunella obovata*, *Fortunella margarita*, *Fortunella crassifolia*, *Fortunella hindsii*.

7. La famille des Sapotacées

7.1. Généralité

Comportant approximativement 600 espèces réparties sur 40 à 50 genres, cette famille est principalement intertropicale et pénètre rarement les régions tempérées (**Nouaïm, 1995**). Il y'a des espèces qui fournissent des fruits comestibles. Certains fournissent du beurre (beurre de Karité). Et d'autre des huiles tel que l'huile d'arganier (**Nouaïm et al., 1991**).

L'*Argania spinosa*, plus communément appelée Arganier, est un arbre endémique au Maroc, où il est classé comme la seconde espèce forestière du pays, suivant de près le chêne vert et précédant le thuya. C'est un arbre dont la longévité peut atteindre de 150 à 200 ans. Il est extrêmement résistant face à la sécheresse et à la chaleur (**Charrouf, 1999**).



Figure 41: *Argania spinosa* (**Kechairi, 2022**)

7.2. Systématique

Selon (Quzel and Santa, 1962), (Brahimi, 2005) et (Benabdesslem, 2005) l'Arganier appartient à :

Règne : Végétale.

Embranchement : Spermaphytes.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Sous classe : Gamopétales.

Ordre : Ericale

Famille : Sapotacées.

Genre : *Argania*.

Espèce : *spinosa*.

7.3. Intérêt de l'Arganier

L'Arganier est un arbre polyvalent, dont chaque partie ou production peut être exploitée et constitue une source de subsistance ou de revenus pour les habitants qui dépendent de l'Arganier pour leur survie.

L'Arganier joue un rôle crucial dans la préservation des sols et des pâturages, le combat contre l'érosion et la désertification, la sauvegarde de la biomasse en répondant à ses besoins via divers phénomènes, ainsi que dans l'alimentation de la nappe phréatique. Elle contribue à la stabilisation du sol grâce à ses racines pouvant s'étendre sur plusieurs mètres, tout en enrichissant le sol avec des substances organiques provenant de ses feuilles tombées.

L'huile d'argan, riche en graisses de type oléique-linoléique, renferme près de 80% d'acides gras insaturés qui sont parfaitement assimilables et digestibles par le corps humain. La teneur en acides gras de l'huile d'argan est supérieure à celle du lait maternel qui ne contient que 10% d'acide linoléique, ainsi qu'à celle du lait de vache, de la viande et du poisson.

L'acide linoléique, qui est présent en quantité significative (environ 34%), participe à la biosynthèse des prostaglandines. Ces dernières sont des hormones régulatrices des échanges à travers les membranes qui ont une importance majeure dans la perméabilité de l'épiderme (Abdullah and Mohammed, 2012).



Figure 42: Fleur de l'Arganier
(Kechairi, 2022)



Figure 43: Fruit de l'Arganier (Kechairi, 2022)

Nous avons testé le pouvoir bioacaricide de l'huile essentielle de l'Arganier pour le contrôle du *Varroa destructor* par les méthodes de modélisation moléculaire.

CHAPITRE II

ETUDE BIOCLIMATIQUE

1. Introduction

La bioclimatologie est une discipline de l'écologie. C'est la science des rapports entre les organismes vivants et leur environnement.

L'écologie peut être végétale, animale ou humaine en fonction des êtres vivants pris en compte.

L'environnement se caractérise par des facteurs physiques, chimiques et biologiques.

Les facteurs physiques sont principalement liés à des phénomènes énergétiques de nature climatique ; ces éléments incluent le rayonnement, la température, le vent et, dans une certaine mesure, l'eau, qui joue également un rôle chimique **(De Parcevaux and Huber, 2007)**.

La climatologie est l'étude de climat, ses fluctuations et son influence sur différentes activités, notamment celles qui ont un impact sur la santé humaine, la sécurité et le bien-être.

Dans un sens limité, le climat peut être défini comme la moyenne du temps qu'il fait. Plus généralement, il s'agit de l'état du système climatique **(Organisation météorologique mondiale OMM (World Meteorological Organisation, WMO), n.d.)**.

Le climat est défini comme une description statistique de la tendance centrale et de la variabilité d'éléments pertinents tels que la température, les précipitations, les vents, ou encore en utilisant une combinaison d'éléments tels que les types de temps spécifiques d'un endroit, d'une région ou du monde **(Organisation météorologique mondiale OMM (World Meteorological Organisation, WMO), n.d.)**.

Le climat méditerranéen se caractérise par un hiver doux et humide ; un été chaud et sec. Les climats méditerranéens présentent deux critères indispensables pour la vie et la distribution des plantes et des animaux : le rapport entre l'offre et la demande d'eau (indice d'aridité) et le stress thermique représenté par le froid hivernal (ou son absence) **(Le Houerou, 2007)**.

Ce chapitre représente les données climatiques des trois stations : Zenata, Béni Saf et Ghazaouet durant deux périodes : (1913 – 1938) et (1992 – 2023).

Cette analyse bioclimatique a pour but de comparer les données entre les deux périodes et mettre en évidence l'impact de climat sur les plantes aromatiques, la répartition et l'évolution des espèces animales.

Tableau 3: Données géographiques des trois stations.

Stations	Latitude	Longitude	Altitude
Zenata	N 34° 59'23.1324''	W 1°27'43.776''	248 m
Béni Saf	N 35°18'0.6156''	W 1°22'43.2192''	68m
Ghazaouet	N 35°5'37.1544''	W 1°51'42.6996''	4m

Tableau 4: Données climatiques des trois stations durant l'ancienne période (1913-1938) (Seltzer, 1946).

Stations	Moyennes mensuelles des précipitations et des Températures													Régime saisonnier				Type	P annuelles (mm) et Tmoyenne (°C)	M (°C) du mois le plus m (°C) du mois le plus froid	Q3	
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	H	P	E	A					
Zenata (1913-1938)	P	65	62	49	44	38	11	1	4	23	42	68	67	194	131	16	133	HAPE	474	32.04	6.7	63.97
	T	9.9	10	10.5	13	15	21	24	26	21.5	17	13	10						16.97			
Béni Saf (1913-1938)	P	49	40	37	30	24	9	1	2	15	39	57	68	157	91	12	111	HAPE	371	29.3	9.1	62.85
	T	12.95	13	14.45	15.5	18.35	21.1	24.1	25.04	22.9	19.7	6.35	12.98						18.15			
Ghazaouet (1913-1938)	P	65.77	49.89	51.03	44.22	35.05	13.34	1.13	1.13	21.54	47.62	66.9	69.17	166.69	92.61	23.8	183.69	AHPE	466.79	29	7	71.35
	T	11.45	11.85	12.9	15.05	17.4	20.6	33.4	24.25	22.15	18.7	15.2	12.35						17.94			

Tableau 5: Données climatiques des trois stations durant la nouvelle période (1992– 2023) (“[https://www.infoclimat.fr.,](https://www.infoclimat.fr.)” n.d.).

Stations	Moyennes mensuelles des précipitations et des Températures													Régime saisonnier				Type	P annuelles (mm) et Tmoyenne (°C)	M (°C) du mois le plus chaud	m(°C) du mois le plus froid	Q3
		J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	H	P	E	A					
Zenata (1992-2023)	P	48,7	34,0	36,9	40,0	28,7	7,3	2,6	17,3	18,8	29,5	45,8	40,5	119.6	76.0	38.7	115.8	HAPE	350.2	33,8	5,8	42.89
	T	11,3	12,2	14,2	16,2	19,5	23,1	26,5	27,1	23,8	20,4	15,5	12,7						18.6			
Béni Saf (1992-2023)	P	57,1	35,4	38,5	45,6	23,5	18,8	14,9	3,7	20,1	38,7	60,0	38,5	131.0	87.9	38.7	137.2	AHPE	394.9	29.6	10.6	71.28
	T	13,3	13,9	15,1	16,8	19,5	22,6	25,3	26,0	23,7	20,4	16,5	14,5						19.0			
Ghazaouet (1992-2023)	P	54,3	30,8	32,1	34,2	20,6	6,6	2,0	7,7	21,0	35,1	49,9	40,5	117.2	61.4	30.7	125.5	AHPE	334.9	25,0	8,1	67.97
	T	13,3	13,7	15,0	16,6	19,3	22,5	25,5	26,2	23,8	20,8	17,0	14,5						19.0			

2. Les facteurs climatiques

2.1. Précipitations

La pluie est un phénomène lié aux systèmes nuageux, qui est influencé par les propriétés microphysiques des nuages ainsi que par les mouvements atmosphériques à haute altitude.

La pluviométrie d'une région est étroitement liée au climat. Les précipitations sont variables à la fois dans le temps et l'espace et influencent les êtres vivants (**Roux, 1991**).

La variation de la pluviosité est influencée par trois principaux gradients : l'altitude, la longitude et la latitude (**Chaâbane, 1993**).

2.1.1. Régime des précipitations annuelles

La moyenne des précipitations annuelles est le premier facteur déterminant les conditions d'aridité d'une région (**Floret and Pontanier, 1984**).

Le tableau 4 et 5 représentent les données climatiques des trois stations : Zenata, Béni Saf et Ghazaouet durant l'ancienne période (1912 – 1938) et durant la nouvelle période (1992 – 2023).

D'après les deux tableaux ; nous remarquons que la période la moins pluvieuse s'étale depuis le mois de Juin jusqu'à le mois d'Août dans les trois stations et durant les deux périodes, l'ancienne et la nouvelle.

La répartition des précipitations est irrégulière dans les trois stations durant les deux périodes.

Durant l'ancienne période ; les précipitations moyennes annuelles à Zenata ont été à 474 mm, 371 mm à Béni Saf et 466.79 mm à Ghazaouet.

Durant la nouvelle période ; les précipitations moyennes annuelles à Zenata ont été à 350.2 mm, 349.9 mm à Béni Saf et 334.9 mm à Ghazaouet.

Zenata est la station la plus pluvieuse dans les deux périodes.

Nous enregistrons ainsi qu'il y a une diminution de précipitations entre les deux périodes.

2.1.2. Régime saisonnier

(Musset, 1953) a introduit la notion du régime saisonnier. Il s'agit de calculer la somme des pluies précipitées par saison et a effectué le classement des saisons par ordre de pluviosité décroissante, prenant en considération que chaque saison est formée par trois mois :

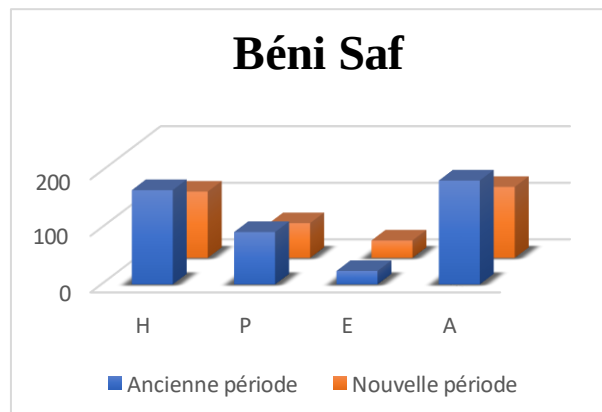
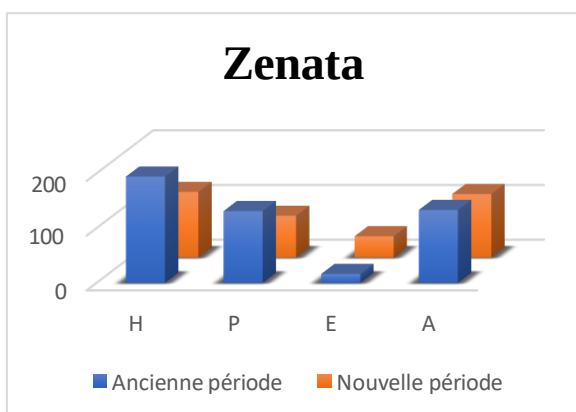
- ✓ **Hiver (H)** : Décembre – Janvier – Février.
- ✓ **Printemps (P)** : Mars – Avril – Mai.
- ✓ **Eté (E)** : Juin – Juillet – Août.
- ✓ **Automne (A)** : Septembre – Octobre – Novembre.

Durant l'ancienne période (**tableau 4**) ; le régime saisonnier à Zenata et Béni Saf a été de type HAPE, et de type AHPE à Ghazaouet.

Durant la nouvelle période (**tableau 5**) ; le régime saisonnier à Zenata a été de type HAPE, et de type AHPE à Béni Saf et Ghazaouet.

Nous constatons que le régime saisonnier à Béni Saf a changé en comparant entre les deux périodes.

Nous remarquons ainsi que les précipitations sont abondantes durant la saison hivernale et automnale et nous enregistrons une sécheresse durant la saison estivale et cela dans les trois stations.



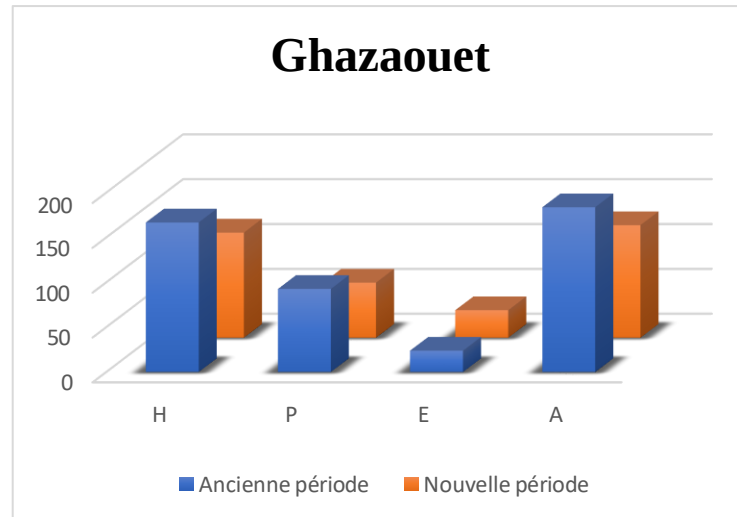


Figure 44: Variation saisonnières des précipitations.

2.1.3. Le régime mensuel

Le coefficient pluviométrique mensuel est utilisé pour déterminer la quantité de pluie d'un mois par rapport à la somme des précipitations annuelles (**Barka, 2016**).

La répartition mensuelle, tout en mettant en évidence le caractère irrégulier de la pluviosité, mène à y reconnaître une période pluvieuse avec un maximum en hiver et une période sèche estivale correspondant au minimum pluviométrique (**Chaâbane, 1993**).

Durant l'ancienne période, le mois le plus pluvieux à Zenata est le mois de Novembre et le moins pluvieux est le mois de Juillet.

Le mois le plus pluvieux à Béni Saf est le mois de Novembre et le moins pluvieux est le mois de Juillet.

Le mois le plus pluvieux à Ghazaouet est le mois de Décembre et le moins pluvieux est le mois de Juillet.

Durant la nouvelle période, le mois le plus pluvieux à Zenata est le mois de Janvier et le moins pluvieux est le mois de Juillet.

Le mois le plus pluvieux à Béni Saf est le mois de Décembre et le moins pluvieux est le mois de Août.

Le mois le plus pluvieux à Ghazaouet est le mois de Novembre et le moins pluvieux est le mois de Juillet.

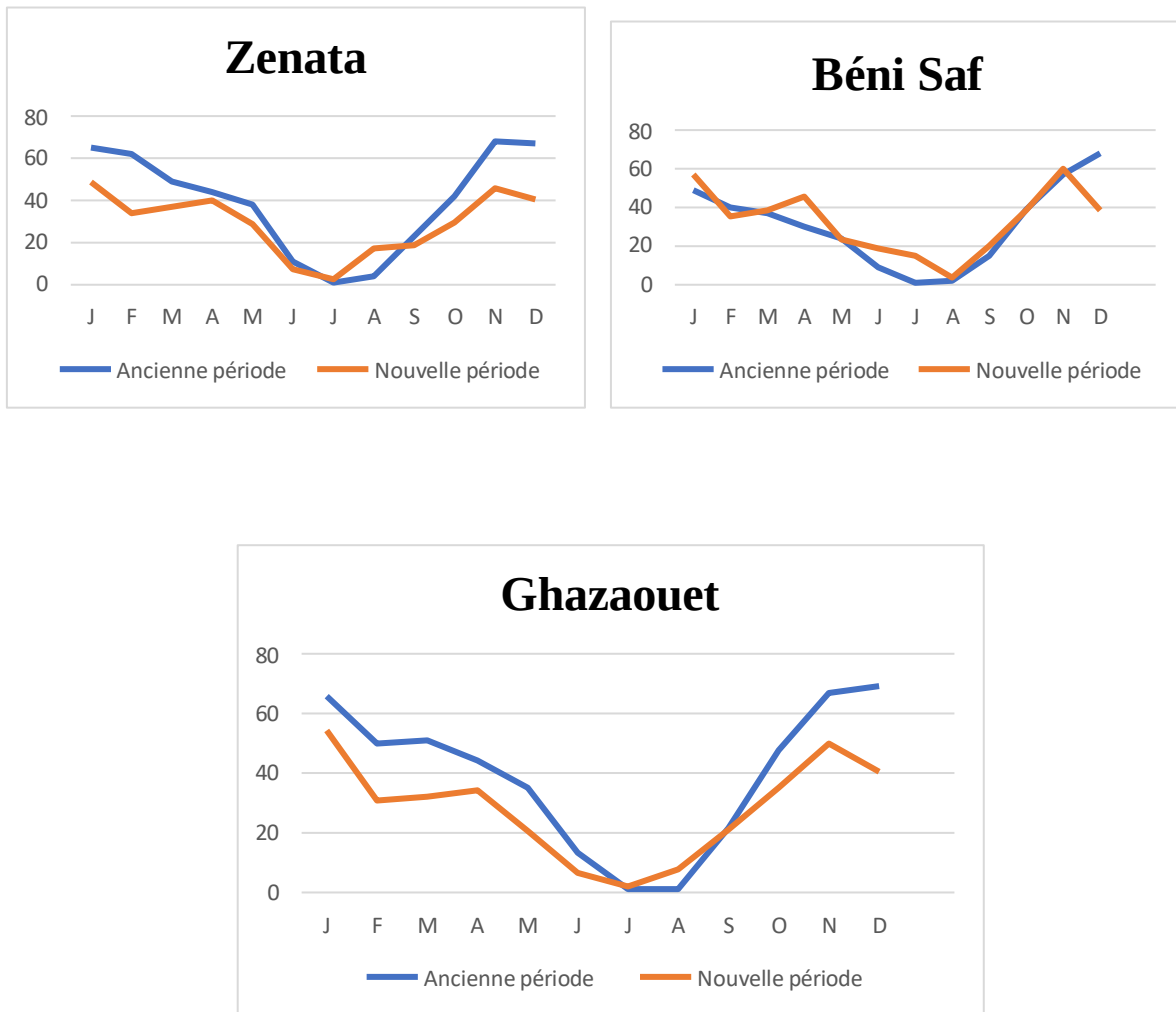


Figure 45: Variations mensuelles des précipitations dans les deux périodes.

2.2. Températures

(Péguy, 1970) a défini la température comme une qualité de l'atmosphère plutôt qu'une grandeur physique mesurable.

La température joue un rôle essentiel en tant que facteur limitant, puisqu'elle régule les phénomènes métaboliques et donc influence la répartition des êtres vivants (Ramade, 1984).

Selon (Emberger, 1955), les fluctuations de température qui ont une importance biologique et qui sont les plus significatives pour la vie des plantes sont les suivantes :

- ✓ La température moyenne mensuelle et annuelle.
- ✓ La température moyenne des minimas du mois plus froid (m).
- ✓ La température moyenne des maximas du mois plus chaud (M).
- ✓ L'amplitude thermique (M-m).

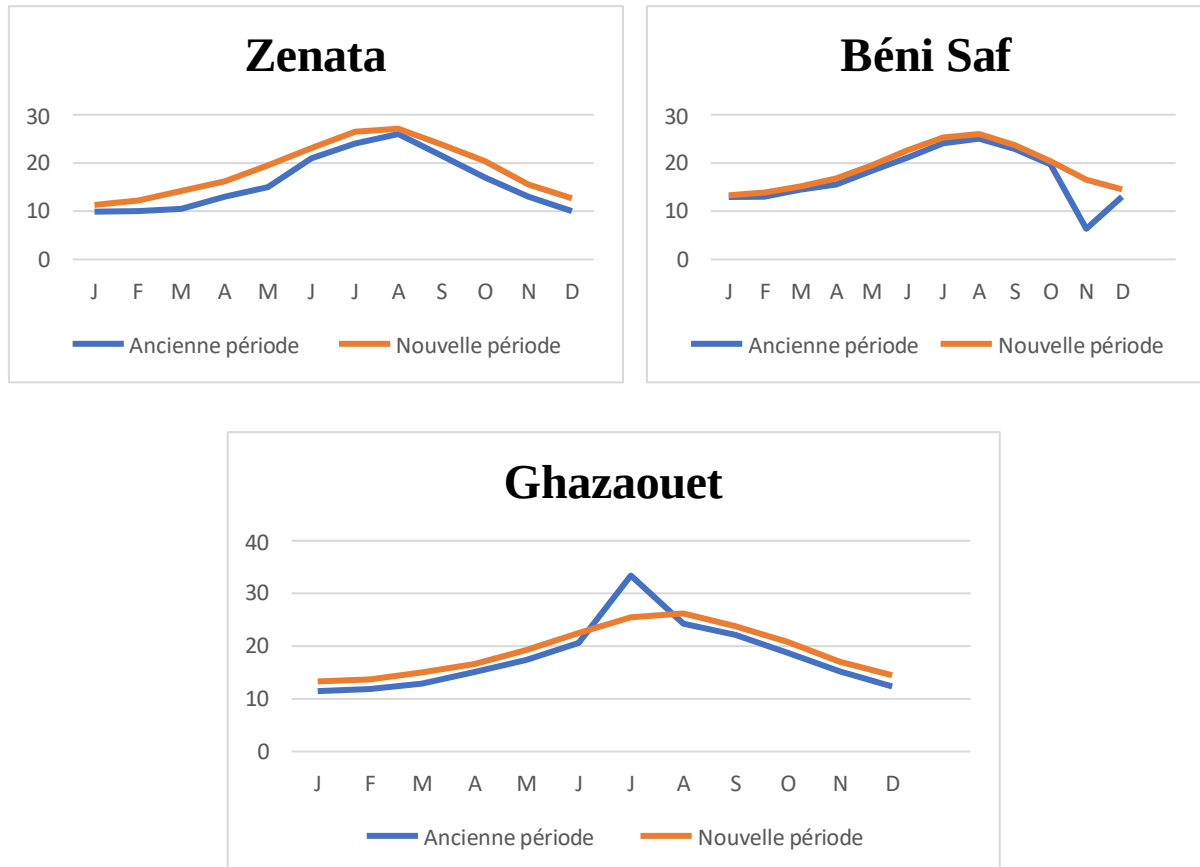


Figure 46: Variations mensuelles des températures dans les deux périodes.

2.2.1. Amplitude thermique (Indice de continentalité)

L'écart thermique ou l'amplitude thermique, est la différence entre les températures moyennes maximales et minimales ($M - m$). Plus l'amplitude est élevée, plus la continentalité augmente (**Derbach, 1953**).

Il a une valeur écologique importante ; parce qu'elle présente la limite thermique à laquelle chaque année au moyenne les espèces végétales doivent résister (**Djebaili, 1984**).

Selon les amplitudes thermiques ($M - m$), on peut distinguer quatre types de climats mentionnés par **(Derbach, 1953)** dans **(Alcaraz, 1983)** :

- ✓ $M - m < 15^{\circ}\text{C}$: Climat insulaire
- ✓ $15^{\circ}\text{C} < M - m < 25^{\circ}\text{C}$: Climat littoral
- ✓ $25^{\circ}\text{C} < M - m$: Climat semi-continental
- ✓ $M - m > 35^{\circ}\text{C}$: Climat continental

Tableau 6: Indice de continentalité.

Stations	Périodes	M-m	Type de climat
Zenata	Ancienne	25,34	Semi-continentale
	Nouvelle	28	Semi-continental
Béni Saf	Ancienne	20.2	Littoral
	Nouvelle	19	Littoral
Ghazaouet	Ancienne	22	Littoral
	Nouvelle	16.9	Littoral

Le tableau 6 représente les résultats de calcul de l'amplitude thermique des trois stations dans les deux périodes.

Zenata possède un climat semi continental dans les deux périodes. Béni Saf et Ghazaouet ont un climat littoral dans l'ancienne et la nouvelle période.

3. Indice d'aridité de DE MARTONNE

(De Martonne, 1926) a défini l'aridité du climat et il a évalué le niveau de sécheresse dans une région spécifique en utilisant un indice basé sur les précipitations et les températures moyennes annuelles.

$$I = P + T/10$$

I : Indice d'aridité.

P : Précipitation moyenne annuelle (mm).

T : Température moyenne annuelle (°C).

Si :

I < 5 : Climat hyper - aride

5 < I < 10 : Climat désertique

10 < I < 20 : Climat semi - aride

I > 20 : Climat humide

Tableau 7: Indice d'aridité de De Martonne.

Stations	Périodes	I	Type de climat
Zenata	Ancienne	17.54	Semi-aride
	Nouvelle	12.24	Semi-aride
Béni Saf	Ancienne	13.17	Semi-aride
	Nouvelle	13.61	Semi-aride

Ghazaouet	Ancienne	16.70	Semi-aride
	Nouvelle	11.54	Semi-aride

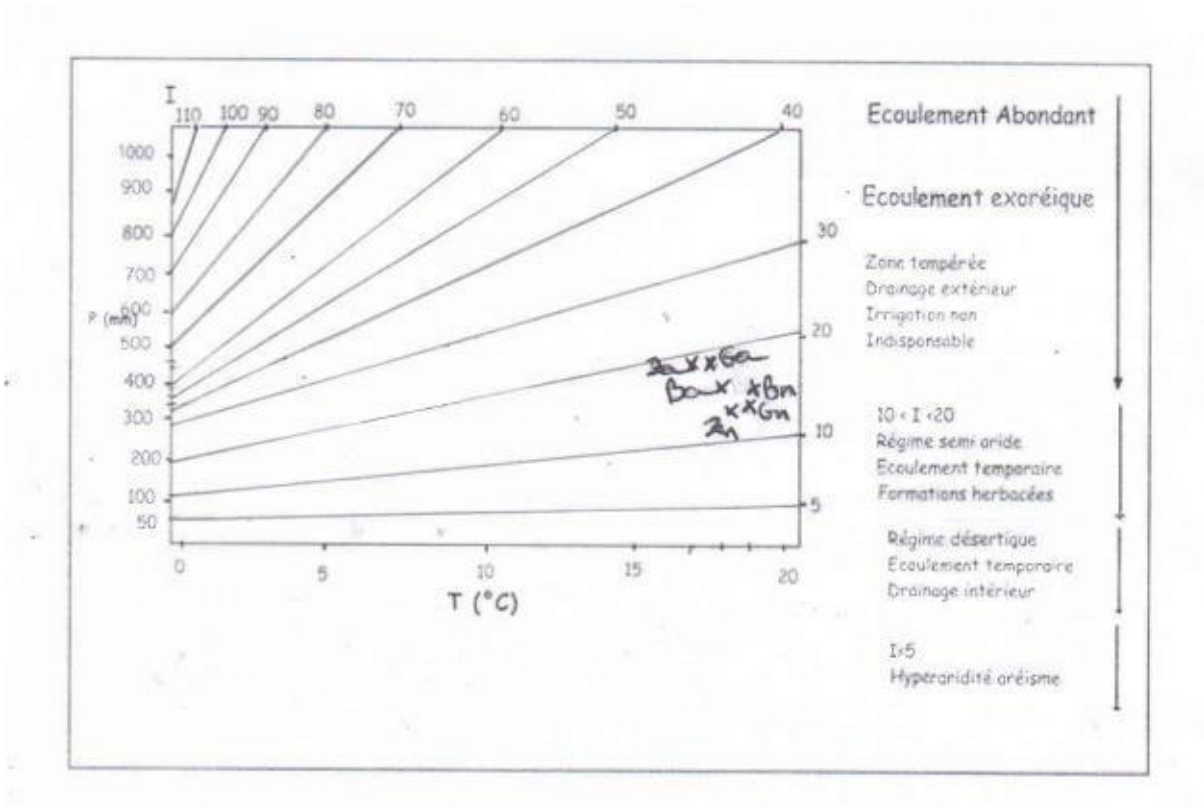


Figure 47: Indice d'aridité de De Martonne.

Za : Zenata dans l'ancienne période

Zn : Zenata dans la nouvelle période

Ba : Béni Saf dans l'ancienne période

Bn : Béni Saf dans la nouvelle période

Ga : Ghazaouet dans l'ancienne période

Gn : Ghazaouet dans la nouvelle période

On remarque que les trois stations Zenata, Béni Saf et Ghazaouet se caractérisent par un climat semi-aride dans les deux périodes.

4. Quotient pluviothermique d'Emberger

Emberger (1930 – 1955) a établi un quotient pluviométrique permettant de déterminer l'étage bioclimatique d'une station donnée. Il est particulièrement adapté aux régions méditerranéennes.

$$Q_2 = \frac{2000 P}{(M+m)(M-m)} = \frac{2000 P}{M^2 - m^2}$$

Avec :

P : pluviosité moyenne annuelle.

M : moyenne des maxima du mois le plus chaud (T+273°K).

m : moyenne des minima du mois le plus froid (T+273°K).

Stewart, en 1969, a utilisé le quotient Q3, adapté pour l'Algérie et le Maroc.

$$Q_3 = 3.43 \frac{P}{M - m}$$

Tableau 8: Etage bioclimatique des trois stations durant les deux périodes en fonction du quotient d'Emberger.

Stations	Périodes	Q3	Etage bioclimatique
Zenata	Ancienne	63.97	Semi-aride supérieur à hiver tempéré
	Nouvelle	42.89	Semi-aride Inférieur à hiver Tempéré
Béni Saf	Ancienne	62.85	Semi-aride à hiver Chaud

	Nouvelle	71.28	Semi-aride à hiver Chaud
Ghazaouet	Ancienne	71.35	Semi – aride supérieur à hiver tempéré
	Nouvelle	67.97	Semi – aride supérieur à hiver chaud

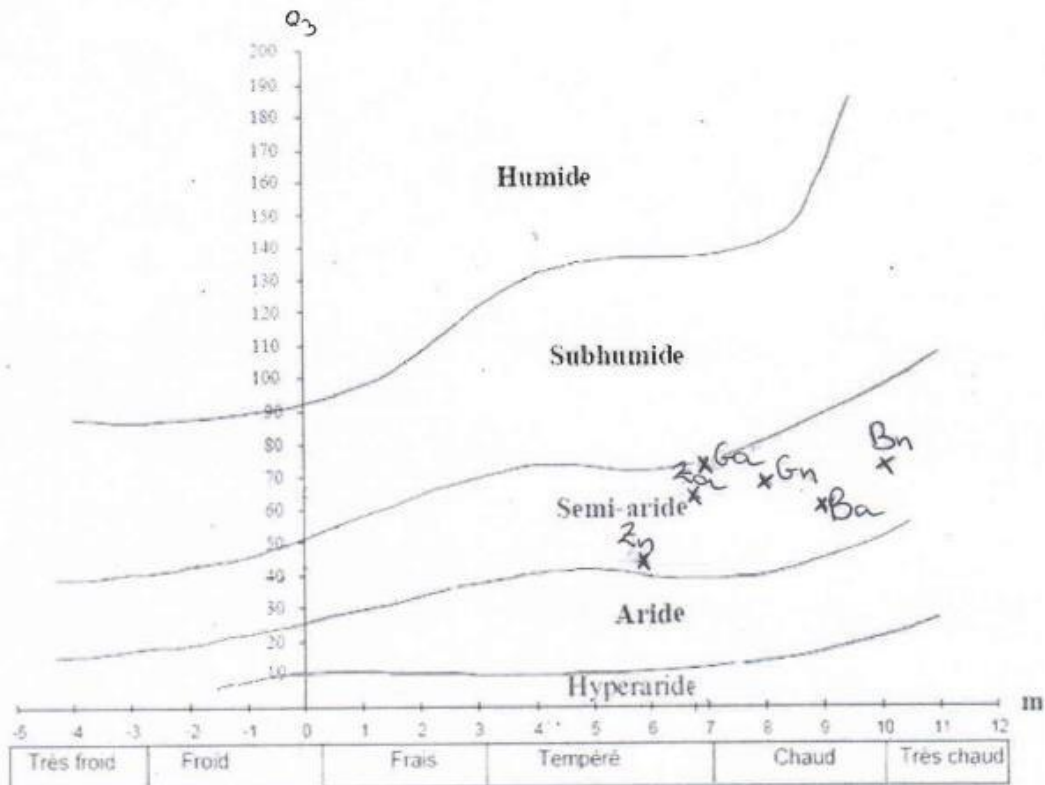


Figure 48: Climagramme d'Emberger.

Za : Zenata dans l'ancienne période

Zn : Zenata dans la nouvelle période

Ba : Béni Saf dans l'ancienne période

Bn : Béni Saf dans la nouvelle période

Ga : Ghazaouet dans l'ancienne période

Gn : Ghazaouet dans la nouvelle période

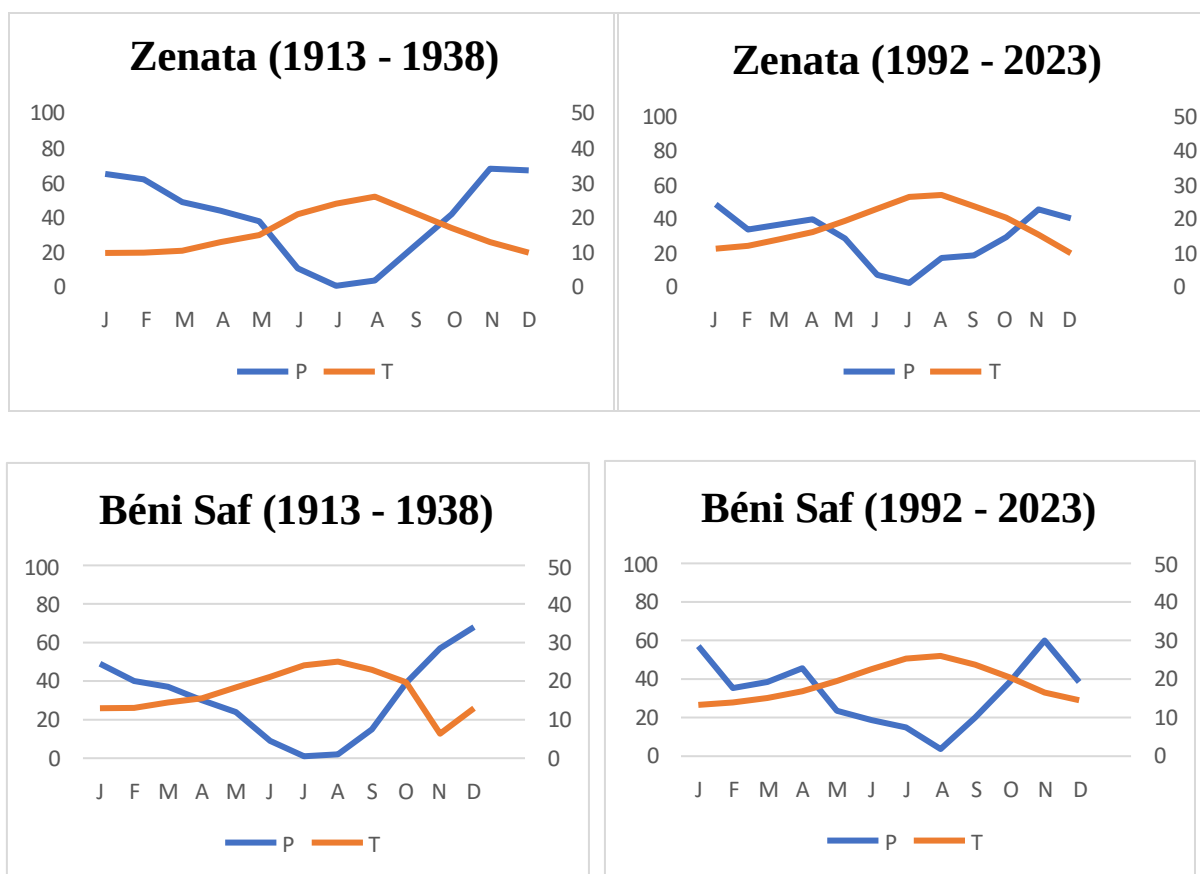
Zenata a passé d'un étage bioclimatique semi-aride supérieur à hiver tempéré à semi-aride inférieur à hiver tempéré.

Béni Saf appartient à un étage bioclimatique semi-aride à hiver chaud dans l'ancienne et la nouvelle période.

Ghazaouet a passé d'un étage bioclimatique semi – aride supérieur à hiver tempéré à semi – aride supérieur à hiver chaud.

1. Diagrammes ombrothermiques de Bagnouls et Gaussen

Bagnouls et Gaussen (1954) ont établi un diagramme qui permet de déterminer les périodes sèches et humides de l'année, où sont portés en abscisses les mois et en ordonnées les valeurs des précipitations (P) et des températures (T) avec : $P = 2 T$.



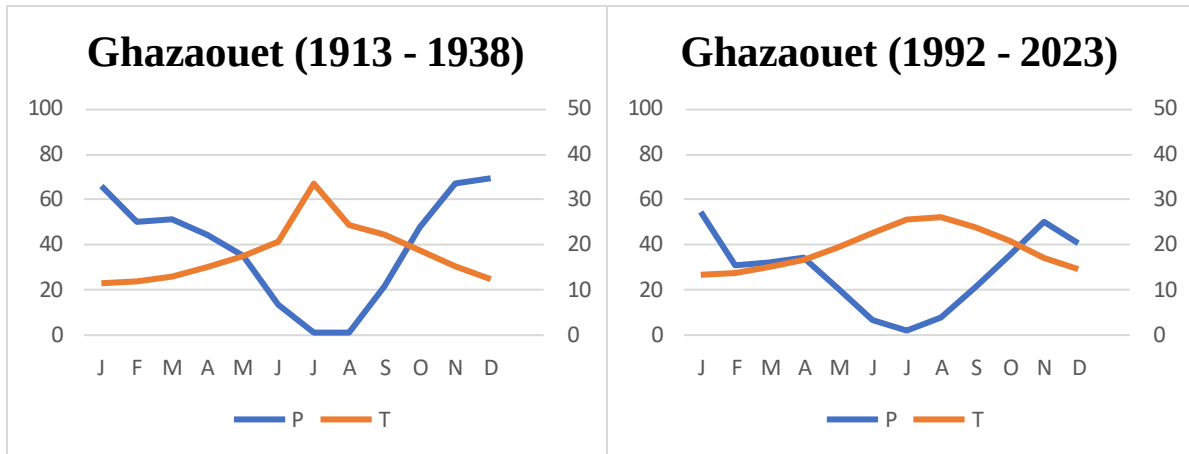


Figure 49: Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen.

L'analyse visuelle du diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen met en évidence la période de sécheresse des trois stations :

- ✓ Zenata : la période sèche s'étale de Mai à Octobre durant l'ancienne période et de mi-Avril à mi-October durant la nouvelle période.
- ✓ Béni Saf : la période sèche s'étale de mi-Avril à Octobre durant l'ancienne période et de Mai à Octobre durant la nouvelle période.
- ✓ Ghazaouet : la période sèche s'étale de Mai à Octobre durant l'ancienne période et de Avril à Octobre durant la nouvelle période.

5. Conclusion

Nous avons établi dans ce chapitre une analyse bioclimatique des trois stations : Zenata, Béni Saf et Ghazaouet durant l'ancienne période (1913 – 1938) et la nouvelle période (1992 – 2023).

Pour les trois stations il s'agit bien d'un climat méditerranéen avec un hiver doux et humide et un été chaud et sec.

Le régime saisonnier montre que l'hiver et l'automne sont les saisons les plus arrosés.

Les résultats du calcul de l'amplitude thermique montre qu'il s'agit un climat méditerranéen semi-continentale et littoral.

Le calcul de l'indice de De Martonne montre que les trois stations Zenata, Béni Saf et Ghazaouet se caractérisent par un climat semi-aride dans les deux périodes.

Le quotient pluviothermique d'Emberger permet de classer les stations en deux niveaux bioclimatiques distincts, allant du semi-aride supérieur au semi-aride inférieur.

Les diagrammes de Bagnouls et Gaussen montrent que la saison sèche s'étale généralement du mois de Mai jusqu'à le mois d'Octobre.

En comparant entre la période ancienne et nouvelle, nous remarquons :

- ✓ Une augmentation des températures moyennes minimales.
- ✓ Une augmentation de l'aridité.
- ✓ Une accentuation de la sécheresse estivale.

Enfin, les conditions climatiques actuelles sont propices pour le développement de l'apiculture.

CHAPITRE III

MATERIEL ET METHODES

I. Etude in silico

Partie 01

1. Introduction

Confrontés aux maladies, parasites, prédateurs, pesticides ; le taux de mortalité des colonies augmente.

Les abeilles utilisent diverses stratégies de lutte, mais elles ne possèdent pas toujours la capacité suffisante pour affronter les conditions environnementales.

Le Varroa, qui provoque la maladie de la varroose, a un impact délétère en se nourrissant de l'hémolymphe de l'abeille et en épuisant ses réserves protéiques (**Riondet, 2013**).

Dans la respiration cellulaire, la glycolyse est la première étape de dégradation du glucose.

D-Glucose 1-phosphate est une protéine présente dans le cytoplasme du *Varroa destructor*. Elle régule les niveaux du glucose dans les cellules (**“KEGG PATHWAY: vde00010,” n.d.**).

Dans ce contexte, nous présentons dans cette partie le matériel utilisé et les méthodes exploitées pour proposer une molécule naturelle pour inhiber la protéine D-Glucose 1-phosphate dans le *Varroa destructor* et remplacer les acaricides chimiques.

2. Matériel

2.1. Présentation de la protéine

Les protéines, les glucides et les lipides sont les trois grandes familles des macronutriments.

Les protéines constituent un enchaînement d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques (**Boutry et al., 2008**). Les protéines sont des composantes cruciales des

organismes et des cellules animales et végétales, jouant des fonctions vitales dans leur existence. Ils jouent un rôle structurel dans les tissus musculaires, la matrice osseuse et la peau, ainsi qu'un rôle fonctionnel en tant qu'enzymes, hormones, anticorps et récepteurs. Les protéines alimentaires sont la principale source d'acides aminés et d'azote, et servent de composants énergétiques d'un point de vue nutritionnel (**Reeds, 2000**).

La protéine cible dans notre travail est D-Glucose 1-phosphate dans le *Varroa destructor*.

Cette protéine a une activité de transférase et d'hydrolase.

D-Glucose 1-phosphate est une protéine constituée de l'assemblage de 328 acides aminés. Elle est présente dans le cytoplasme du *Varroa destructor* ; régulant les niveaux du glucose dans les cellules (**"GDP-D-glucose phosphorylase 1 - Varroa destructor (Honeybee mite) | UniProtKB | UniProt," n.d.**).

La glycolyse est le processus de conversion du glucose en pyruvate et de génération de petites quantités d'ATP (énergie) et de NADH (puissance réductrice) (**"KEGG PATHWAY: vde00010," n.d.**).

2.2. Présentation des inhibiteurs

Un inhibiteur en chimie est un matériau, généralement une molécule, qui ralentit ou arrête un processus chimique, affectant le taux de réaction à un certain degré.

Un inhibiteur en biochimie est une substance chimique qui réduit le taux d'un processus facilité par une enzyme. Un inhibiteur peut entraver le substrat de se lier au site actif d'une enzyme ou induire un changement conformationnel dans l'enzyme. Cela rend l'enzyme inactif.

L'inhibition enzymatique est cruciale pour la gestion des processus biologiques, en particulier dans la régulation des voies métaboliques. L'enzymologie utilise largement des inhibiteurs pour élucider le mécanisme d'action d'une enzyme.

Les applications se trouvent dans plusieurs autres secteurs, tels que les produits pharmaceutiques, les pesticides et les insecticides, où les inhibiteurs enzymatiques sont souvent utilisés (**Robert, 2010**).

Les inhibiteurs qui font objet dans notre travail sont ceux extraits des huiles essentielles des plantes du genre *Ruta*, *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* de la famille des Rutacées.

Tableau 9: Composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* de la région de Tlemcen (Merghache et al., 2009).

Composés chimiques	Partie aérienne
Limonène	2.56
2-Nonanone	22.89
2-Nonanol	0.32
2-Décanone	1.69
1-Décanol	10.96
2-Undécanone	43.71
2-Undécanol	1.36
1,7 Octadiene2, 7 diméthyl 3,6 bis (méthylène)	Tr
1-Undécanol	Tr
2-Dodécanone	0.93
2-Dodécanone	0.60
1-Dodécanol	4.61
2-Tridécanone	0.74
E-11, 13-diméthyl-12-tetradécèn-1- ol Acetate	0.05
Elémol	0.36
Elémicin	0.03
2-Butyl 4-(3',5'-benzo-dioxyl)- acetate	0.06
6-(3',5'-Benzo-dioxyl) -3,3-diméthyl1- Hexène	0.32
Chalepensisin	0.05
Clausindin	0.02
Composés identifiés au total (%)	91.26

Nous avons sélectionné les principes actifs suivants : Limonène, 2-Nonanone, 2-Décanone, 1-Décanol, 2-Undécanone, 2-Undécanol, 1-Dodécanol.

Tableau 10: Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus limon* de la région de Tlemcen (**Hamdani, 2018**).

Régions	Composés majoritaires	Rendements (%)
Ghazaouet	Myrcène	1.8
	Limonène	58.2
	Géranial	7.7
Béni saf	Myrcène	1.8
	Limonène	58.2
	Géranial	7.7
Remchi	Myrcène	8.4
	Limonène	52.2
	Géranial	10.4
Sekkak	Myrcène	10.8
	Limonène	63.2
	Géranial	7.2
Oulhaça	Myrcène	10.8
	Limonène	65.7
	Géranial	6.3
Maghnia	Myrcène	10.8
	Limonène	70.1
	Géranial	4.2
Bensekrane	Myrcène	8.1
	Limonène	75.2
	Géranial	2.1
Ouled Mimoun	Myrcène	7.3
	Limonène	60.1
	Géranial	6.8
Ben Badis	Myrcène	13.3
	Limonène	67.1
	Géranial	3.7
Sebdou	Myrcène	10.5
	Limonène	55.1
	Géranial	7.7

Tableau 11: Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus sinensis* de la région de Tlemcen (**Hamdani, 2018**).

Régions	Composés majoritaires	Rendements (%)
Beni Ghenam	Myrcène	1.8
	Limonène	82.1
	Linalool	3.7
Béni saf	Myrcène	1.2
	Limonène	70.9
	Linalool	1.2
Remchi	Myrcène	0.1
	Limonène	45.1
	Linalool	1.9
Sekkak	Myrcène	0.9
	Limonène	86.5
	Linalool	2.1
Maghnia	Myrcène	10.8
	Limonène	36.1
	Linalool	6.2
Hennaya	Myrcène	1.0
	Limonène	75.1
	Linalool	0.7

Ain el Hout	Myrcène	0.7
	Limonène	81.8
	Linalool	0.5
Ouled Mimoun	Myrcène	0.2
	Limonène	51.7
	Linalool	1.6
Sebdou	Myrcène	0.1
	Limonène	48.5
	Linalool	1.2

Tableau 12: Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus aurantium* de la région de Tlemcen (**Hamdani, 2018**).

Régions	Composés majoritaires	Rendements (%)
Ouzidene	Myrcène	6.1
	Limonène	83.0
Ain Hout	Myrcène	16.4
	Limonène	75.6
Boudjlida	Myrcène	37.5
	Limonène	53.2
Kalaa Tlemcen	Myrcène	6.1
	Limonène	78.0

Tableau 13: Composition chimique de l'huile essentielle de *Citrus clementina* de la région de Tlemcen (**Hamdani, 2018**).

Composés chimiques	Rendements (%)
α -pinène	2.6
Myrcène	3.2
Limonène	9.8

Les principes actifs que nous avons sélectionné du genre *Citrus* sont : Myrcène, Limonène, Géraniol, Linalool, α -pinène.

Tableau 14: Composition chimiques des huiles essentielles des fruits des cinq espèces du genre *Fortunella* (Corse, France) (**Sutour et al., 2016**).

Composés chimiques	<i>Fortunella japonica</i>	<i>Fortunella obovata</i>	<i>Fortunella margarita</i>	<i>Fortunella Crassifolia</i>	<i>Fortunella hindsii</i>
Rendements (%)					
α -thujène	Tr	-	-	-	Tr
α -pinène	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
Myrcène	1.5	1.4	1.4	12.9	1.3
α -terpinène	Tr	-	-	Tr	Tr
Limonène	96.3	95.6	93.1	84.2	93.5
β -phellandrène	0.2	0.1	0.2	0.3	0.1

γ -terpinène	Tr	-	-	Tr	-
Cis oxyde de linalol THF	0.1	0.1	Tr	0.1	Tr
Trans oxyde de linalol THF	0.1	0.1	0.3	Tr	0.2
p-cyménène	Tr	-	-	-	Tr
Terpinolène	Tr	Tr	-	0.1	-
Linalool	Tr	0.1	-	0.1	-
Cis- β -terpinéol	0.1	Tr	Tr	0.2	Tr
p-mentha-1,5-diène-8-ol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
α -terpinéol	0.5	0.3	0.1	Tr	0.1
Trans carvéol	0.1	0.4	0.2	0.6	0.2
Cis carvéol	Tr	Tr	Tr	0.1	0.1
δ -élémane	0.1	0.1	0.2	Tr	0.2
Acétate d' α -terpinyle	0.1	Tr	-	0.1	0.1
Acétate de géranyle	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Germacrène D	0.2	0.3	2.4	0.3	2.1

Bicyclo germacrène	Tr	-	0.2	-	0.2
δ -cadinène	Tr	Tr	0.2	0.1	0.2
γ -eudesmol	Tr	-	0.3	Tr	0.1
α -eudesmol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
β -eudesmol	Tr	Tr	Tr	Tr	0.2
Total	99.8	98.9	99.0	99.5	99.0

Tableau 15: Composition chimiques des huiles essentielles des feuilles des cinq espèces du genre *Fortunella* (Corse, France) (Sutour, 2010).

Composés chimiques	<i>Fortunella</i>	<i>Fortunella</i>	<i>Fortunella</i>	<i>Fortunella</i>	<i>Fortunella</i>
Rendements (%)	<i>japonica</i>	<i>obovata</i>	<i>margarita</i>	<i>Crassifolia</i>	<i>hindsii</i>
Limonène	7.1	7.3	2.8	2.8	3.1
δ -élémente	5.2	7.1	0.1	0.1	12.5
β -élémente	3.3	4.4	0.6	0.6	3.6
(E)- β - caryophyllène	1.6	0.7	5.5	6.0	2.3
α -amorphène	0.5	0.3	0.2	-	1.0
Germacrène D	14.9	15.5	14.9	14.9	28.7
Bicyclo germacrène	0.8	0.2	4.8	4.8	3.9

β-élémol	9.1	8.4	26.8	25.8	10.8
(E)-nérolidol	1.1	1.6	3.4	3.3	1.0
Germacrène B	2.4	-	0.8	1.4	1.1
Cis-guai-6-èn- 10 β -ol	6.3	6.4	0.6	0.4	0.7
Amorph-4-èn- 10 β -ol	Tr	2.6	0.1	0.1	-
Guaiol	1.2	0.6	0.3	0.2	0.1
Germacra- 1(10),5-dièn- 4 α -ol	2.4	2.4	3.6	2.4	4.4
Trans-guai-6- èn-10 β -ol	1.4	1.2	2.4	2.5	1.5
γ-eudesmol	1.4	1.3	2.5	0.2	1.4
Alismol	1.2	1.0	0.2	5.3	0.8
Erémophilen- 11-ol Δ 9-10	4.2	3.8	8.0	Tr	4.1
Amorph-4-èn- 10 α -ol	2.2	2.4	Tr	1.4	1.0
β-eudesmol	5.5	6.1	3.9	3.9	1.0
Valérianiol	2.1	2.3	2.8	2.8	1.8
α-eudesmol	4.4	4.4	3.1	3.1	1.5

Total	93.1	96.2	97.4	97.8	96.0
-------	------	------	------	------	------

Les principes actifs du genre *Fortunella* que nous avons sélectionné sont : Myrcène, Limonène, δ -élémane, β -élémane, (E)- β -caryophyllène, α -amorphène, Germacrène D, Bicyclogermacrène, β -élémol, (E)-nérolidol, Germacrène B, Guaiol, γ -eudesmol, Alismol, β -eudesmol, Valérianiol, α -eudesmol.

Tableau 16: Composition chimique de l'huile essentielle de *Poncirus trifoliata* (Tundis et al., 2016).

Composés chimiques	Rendements (%)
α -pinène	1.19
Sabinène	1.17
β -pinène	3.95
Myrcène	15.68
α -phellandrène	4.11
α -terpinene	Tr
p-cimene	1.50
Limonène	41.73
(E)- β -ocimene	5.05
γ -terpinene	0.70
Terpinolene	0.54
p-mentha-1,3,8-triene	0.46
Linalool	0.69

Terpinen-4-ol	Tr
α -terpineol	0.30
Nerol	0.65
Géraniol	0.52
Neryl acetate	0.34
Geranyl acetate	0.56
α -cubebene	0.28
Transcaryophyllene	3.59
β -farnesene	1.16
α -humulene	0.72
Germacrene B	0.51
β -elemene	0.59
γ -cadinene	0.20
δ -cadinene	0.73
(E)-nerolidol	0.42
Spathulenol	0.44
(E,Z)-farnesol	1.02
Ethyl hexanoate	2.22
Hexyl butanoate	0.98
Nonanal	Tr

Ethyl octanoate	2.12
Decanal	0.42
Ethyl decanoate	0.72
Dodecanal	0.22
Ethyl laurate	0.46
Myristic acid	0.26
Ethyl myristate	0.31
Octadecane	0.14
Nonadecane	0.12
Eicosane	0.35
Ethyl linoleate	0.23
Ethyl stearate	0.35
Pentacosane	0.42
Heptacosane	0.32
Nonacosane	Tr

Les molécules sélectionnées du genre *Poncirus* sont : α -pinène, Sabinène, β -pinène, Myrcène, α -phellandrène, p-cimene, Limonène, Transcaryophyllene, (E, Z)-farnesol, Ethyl hexanoate, Ethyl octanoate.

Nous avons sélectionné ensuite les molécules synthétiques les plus connues et utilisé dans le marché et parmi les apiculteurs : Amitraz, Tau fluvalinate, Coumaphos et Acide formique.

Le but de notre travail est de contrôler le *Varroa destructor*, ectoparasite de l'abeille domestique, *Apis mellifera* en inhibant la protéine D-Glucose 1-phosphate par les molécules naturelles extraites des huiles essentielles des quatre genres : *Ruta*, *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*, et d'établir une comparaison entre les résultats donnés par ces molécules naturelles et les molécules synthétiques.

2.3. Présentations des logiciels

Les logiciels avec lesquels nous avons travaillé sont :

- ✓ **Chimera, version 1.17.2** : un logiciel conçu pour la visualisation interactive et l'étude des structures moléculaires et des données associées, telles que les cartes de densité, les trajectoires et les alignements de séquences ("<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>," n.d.).
- ✓ **OpenBabel, version 2.4.1** : un logiciel nous permettant la conversion des fichiers et des données ("<https://sourceforge.net/projects/openbabel/>," n.d.).
- ✓ **Autodock vina, version 1.5.7** : une collection d'outils automatisés pour le docking. Il est conçu pour prévoir la liaison de petits composés, à un récepteur structural 3D connu. AutoDock a deux programmes principaux : autodock, qui effectue le docking de ligands sur des grilles représentant la protéine cible, et autogrid, qui génère ces grilles à l'avance ("<https://autodock.scripps.edu/>," n.d.).
- ✓ **BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0** : un logiciel de visualisation et d'analyse des structures moléculaires ("<https://www.3ds.com/products/biovia/discovery-studio/>," n.d.).
- ✓ **LigPlot⁺, version 2.2.8** : un outil qui utilise le LIGPLOT et DIMPLOT pour créer des diagrammes schématiques des interactions protéine / ligand et protéine / protéine respectivement.

- ✓ **Gromacs, 2021** : un logiciel utilisé pour effectuer des simulations de dynamique moléculaire et une minimisation de l'énergie (**Astuti et al., 2011**).

2.4. Présentation des banques de données

Les banques de données et les serveurs en ligne que nous avons visité et exploité dans notre travail sont :

- ✓ **Kegg pathway database** : une collection de cartes de voies dessinées manuellement qui représentent la connaissance des réseaux d'interaction, de réaction et de relation moléculaire pour :
 1. Métabolisme
 2. Traitement des informations génétiques
 3. Traitement des informations environnementales
 4. Processus cellulaires
 5. Systèmes organiques
 6. Maladies humaines
 7. Développement de médicaments (**"<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>," n.d.**).
- ✓ **Uniprot** : une ressource universelle complète pour les données de séquences et d'annotations de protéines (**"<https://www.uniprot.org>," n.d.**).
- ✓ **RCSB** : La banque de données sur les protéines ou PDB (Protein Data Bank) du RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) est une ressource mondiale de données numériques sur la structure 3D de macromolécules biologiques (Protéines, ADN, ARN) (**"<https://www.rcsb.org>," n.d.**).
- ✓ **BLAST** : l'outil de recherche d'alignement local de basse, identifiant les zones de ressemblance locale entre les séquences. Le programme nous permet de comparer les séquences de nucléotides ou de protéines aux bases de données de séquences et calculer la signification statistique des correspondances. BLAST peut être utilisé pour déduire les relations fonctionnelles et évolutives entre les séquences ainsi que pour aider à identifier les membres des familles de gènes (**"<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>," n.d.**).

- ✓ **I-TASSER** : un serveur en ligne qui utilise des algorithmes pour prédire la structure et la fonction des protéines. Il permet de produire automatiquement des prédictions de modèles précis sur la structure 3D et la fonction biologique des protéines à partir de leurs séquences d'acides aminés (**"<https://zhanggroup.org/I-TASSER/>," n.d.**).
- ✓ **SwissADME** : un serveur en ligne à partir duquel nous pouvons prédire les paramètres ADME ; de calculer la physicochimie et d'estimer la pharmacocinétique, la pharmacoséquence et la chimie médicinale de petites molécules (**"<http://www.swissadme.ch/index.php>," n.d.**).
- ✓ **PubChem** : une banque de données contenant de petites molécules, ainsi des plus grosses telles que des nucléotides, des glucides, des lipides, des peptides et des macromolécules chimiquement modifiées. Nous tirons des informations sur les structures chimiques, les identifiants, les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques et la toxicité des molécules (**"<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/DrugBank>," n.d.**).

3. Méthodes

3.1. La modélisation moléculaire

Nous avons exploité dans notre travail la méthode de modélisation moléculaire.

La modélisation moléculaire représente une méthode théorique par les outils informatiques dans le but de prévoir la structure d'une molécule ou d'un système de molécule. Elle permet de simuler, calculer et analyser les propriétés physico-chimiques des molécules (**Paugam, 2008**).

Dans notre travail, la méthode de la modélisation moléculaire a pour but de :

- ✓ Gagner le temps de l'expérience.
- ✓ Gagner le coût des produits.
- ✓ Comprendre et manipuler la matière à l'échelle atomique.
- ✓ Avoir une idée des résultats prévus sur le terrain.
- ✓ La recherche scientifique moderne.

La modélisation moléculaire se repose sur différentes approches :

- ✓ La mécanique quantique
- ✓ La mécanique moléculaire
- ✓ La dynamique moléculaire (**Reuter et al., 2000**).

On trouve aussi la méthode de l'ancrage moléculaire, connu le plus fréquent sous le terme « docking moléculaire » (**Koch and Holthausen, 2001**).

3.2. Méthodes de la modélisation moléculaire

3.2.1. Méthodes quantiques

La mécanique quantique est le prolongement de la théorie des quanta, issue des travaux de Plank. Elle implique la quantification de certaines grandeurs. Son objectif principal est donc de déterminer l'énergie et la distribution électronique.

La mécanique moléculaire est une méthode dédiée aux molécules de taille petite. Le temps de calcul est élevé ; et elle nécessite le recours à de nombreuses approximations (**Dugas, 1996**).

La mécanique quantique est divisée sur trois principaux groupes :

3.2.1.1. Les méthodes ab – initio

Ce sont des méthodes non empiriques qui traitent des petits systèmes moléculaires. Tous les termes énergétiques sont calculés. Le temps de calcul étant alors très long et il faut des ordinateurs puissants (**Young, 2001**).

3.2.1.2. Les méthodes semi – empiriques

Ce sont des méthodes qui traitent les molécules de taille moyenne. Les méthodes semi – empiriques sont soumises à des nombreuses approximations ; le temps de calcul étant donc réduit (**Leach, 1996**).

3.2.1.3. La théorie fonctionnelle de la densité (DFT)

La DFT utilise une expression de l'énergie électronique en fonction de la densité électronique, elle-même en fonction de la position de l'électron. L'énergie est une fonction de fonction donc une fonctionnelle.

Cette méthode est capable de déterminer les propriétés géométriques des molécules, les énergies de liaisons et différents types de spectre pour les molécules (**Chermette, 1998**).

3.2.2. La mécanique moléculaire

La mécanique moléculaire est une méthode empirique (non quantique) traitant les grandes molécules telles que les macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques), ou bien les systèmes avec un grand nombre de molécules.

Elle permet le calcul de l'énergie d'interaction entre les atomes liés (intramoléculaire) et celle d'interaction entre les atomes non – liés (intermoléculaire).

$$E_{\text{Total}} = E_{\text{Liante}} + E_{\text{Non-liante}}$$

$$E_{\text{Liante}} = E_{\text{Liaison}} + E_{\text{Flexion}} + E_{\text{Torsion}}$$

$$E_{\text{Non-liante}} = E_{\text{Electrostatique}} + E_{\text{Van Der Waals}}$$

Le principe de la mécanique moléculaire est d'établir un modèle mathématique « le champ de force » qui représente les variations de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire. Cependant, il n'existe pas encore un seul modèle qui permet de simuler tous les aspects du comportement moléculaire, mais il y en a un ensemble de modèles. Donc pour atteindre un minimum local sur la surface de potentiel dans un temps minimum, il faut représenter toutes les variations possibles de l'énergie potentielle avec la géométrie moléculaire (**Dugas, 1996**).

3.2.2.1. Champ de force

Le champ de force constitue un modèle mathématique qui vise à calculer l'énergie potentielle d'une molécule (ou d'un système de molécule) par rapport aux coordonnées des atomes (**Allinger, 1976**).

3.2.2.2. Minimisation de l'énergie stérique

La minimisation a pour but principal de relaxer la structure initiale et d'éliminer les mauvais contacts intra-atomiques.

Les structures "minimisées" sont généralement liées au minimum local le plus proche de la structure de départ plutôt qu'au minimum d'énergie global. La minimisation de l'énergie est utilisée pour déterminer la conformation moléculaire la plus faible en énergie (**Dugas, 1996**).

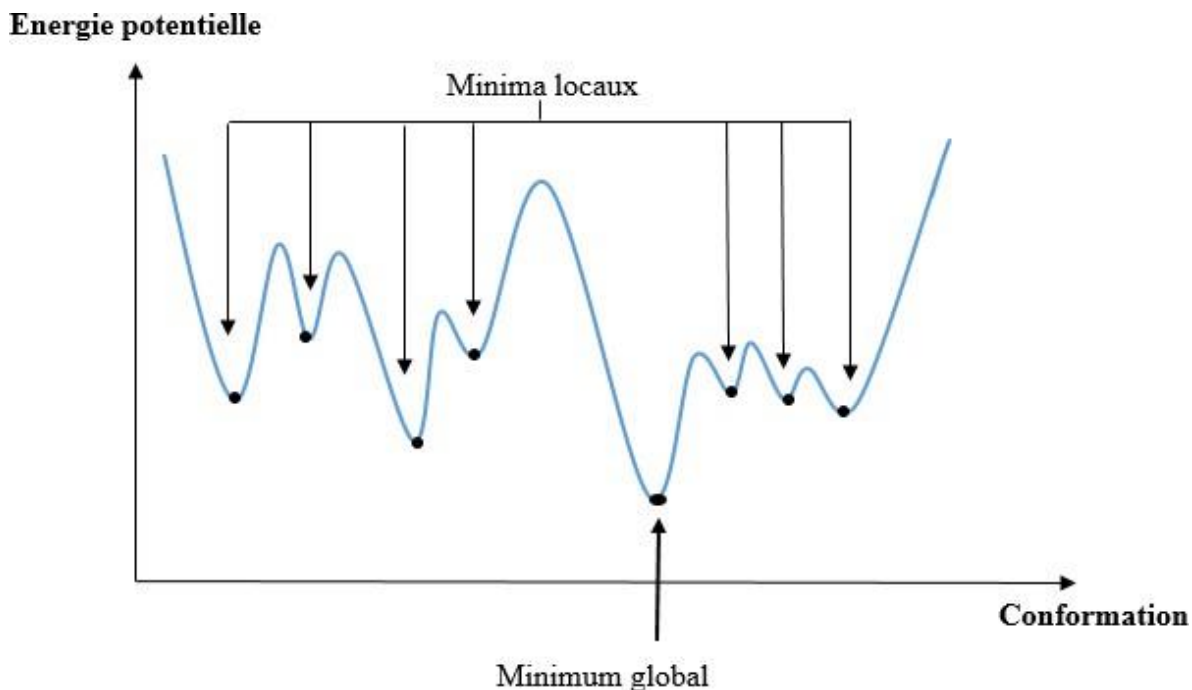


Figure 50: Principe de la minimisation de l'énergie (Schurhammer and Varnek, n.d.)

3.2.3. Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire consiste à l'étude de la trajectoire d'une molécule par utilisation des lois mécanique classique newtonienne, ce qui signifie de simuler les mouvements atomiques en cours temps.

Ces mouvements sont caractérisés avec des vibrations entourant un minimum ou traversant un minimum vers un autre minimum d'énergie. Ainsi, un minimum local peut être extrait par la dynamique moléculaire (Bruice, 2006).

Les principaux objectifs de la simulation de dynamique moléculaire sont :

- ✓ Générer des molécules de trajectoire dans un laps de temps limité.
- ✓ Devenir le pont entre théorie et expériences.
- ✓ Permettre au chimiste de faire des simulations impossibles à réaliser en laboratoire (Astuti et al., 2011).

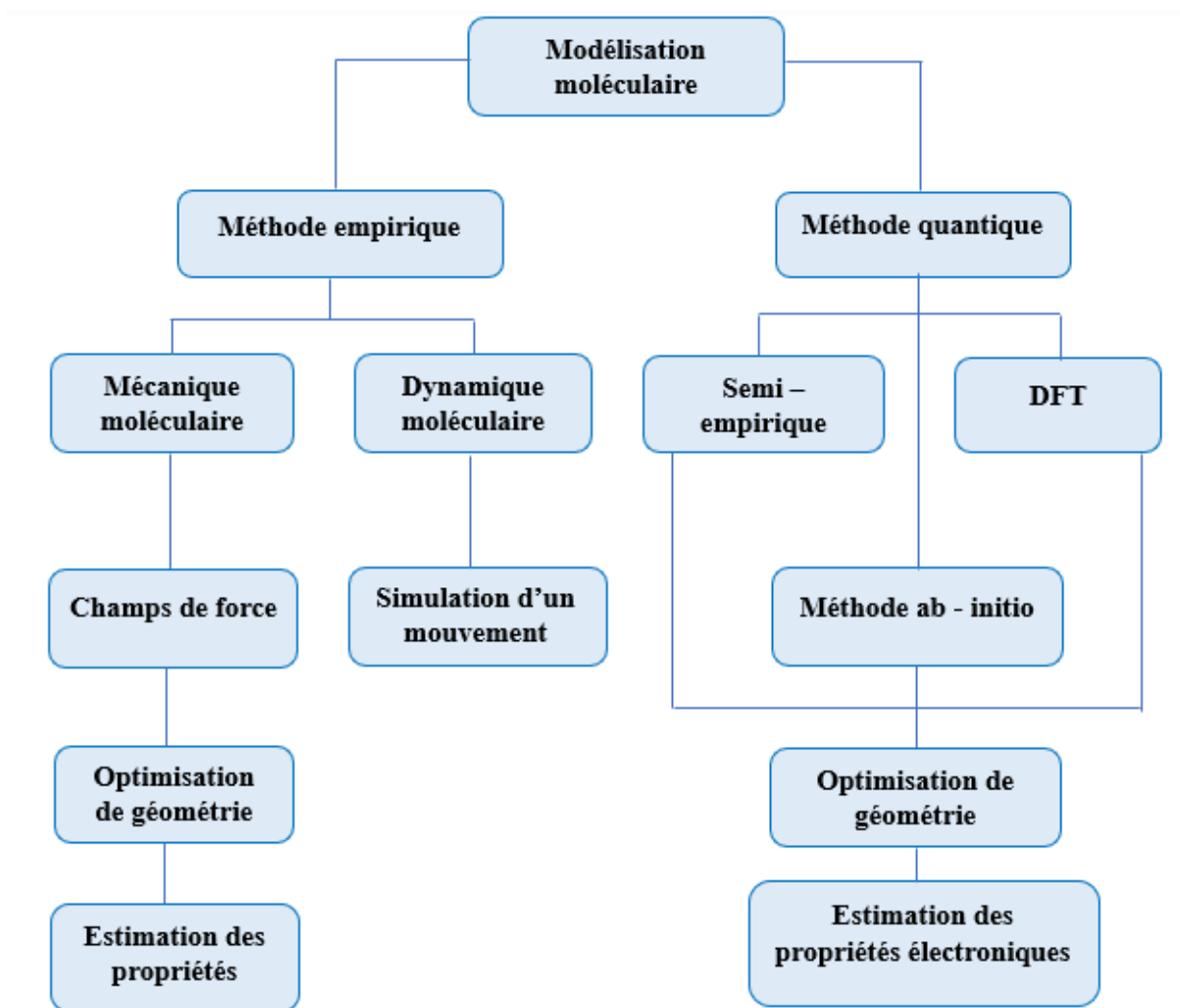


Figure 51: Résumé des méthodes de la modélisation moléculaire.

Nous avons exploité les méthodes quantiques, la mécanique moléculaire et la dynamique moléculaire pour comprendre les structures moléculaires, prédire leurs propriétés et simuler leurs interactions.

3.2.4. Docking moléculaire

Les simulations moléculaires utilisant diverses méthodes pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules sont appelées docking moléculaire (ancrage ou amarrage en français).

Dans la plupart des cas, il s'agit d'une petite molécule (ligand) et d'un récepteur macromoléculaire (cible de docking) dont la structure tridimensionnelle est connue. En raison du fait que la majorité des récepteurs macromoléculaires sont des protéines, le terme "docking seul" est couramment utilisé pour décrire un "docking protéine-ligand" (Warren et al., 2006).

Le docking moléculaire a pour but de déterminer le mode d'interaction d'un complexe formé de deux ou plusieurs molécules, en cherchant des orientations dans l'espace et des conformations favorables pour la fixation d'un ligand à un récepteur (Corbeil et al., 2007).

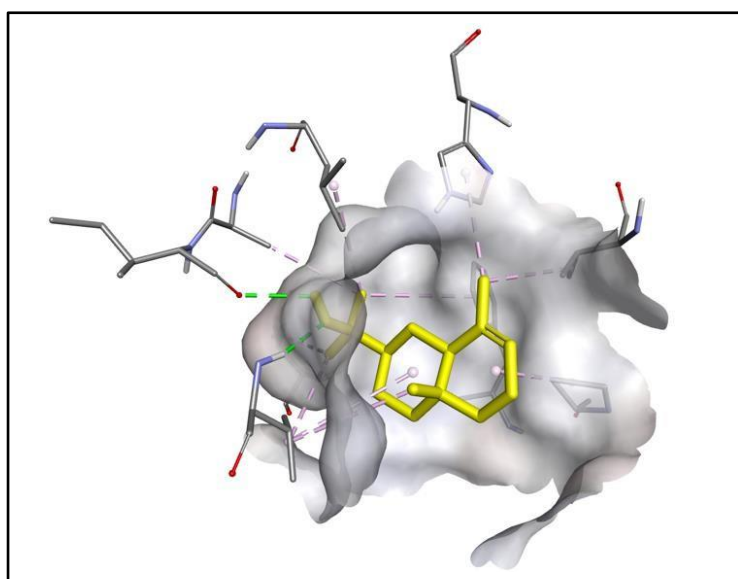


Figure 52: Docking protéine – ligand.

3.2.4.1. Types du docking moléculaire

Il existe trois niveaux de docking distincts :

- ✓ **Le docking rigide** : implique que la protéine et le ligand sont entièrement rigides. Cette méthode est basée sur le principe "clé et serrure" (Lichtenthaler, 1995; Vuorinen and Schuster, 2015).
- ✓ **Le docking semi-flexible** : dans cette méthode, le ligand est laissé flexible pour explorer toutes ses formes potentielles, tandis que la cible est moins rigide pendant l'assemblage. Bien que ce type de docking présente l'avantage de nécessiter un temps

de calcul relativement court et il ne prend pas en compte les changements conformationnels requis par la cible (**Alvarez, 2004**).

- ✓ **Le docking flexible** : cette méthode prend en compte la flexibilité à la fois du ligand et du récepteur. L'un des principaux défis des méthodes de docking flexible est d'explorer l'espace conformationnel des ligands afin de déterminer les bonnes poses des ligands dans le site actif de la protéine et de trouver les modes de liaison correspondant à une énergie libre de liaison basse (**Zekri, 2021**).

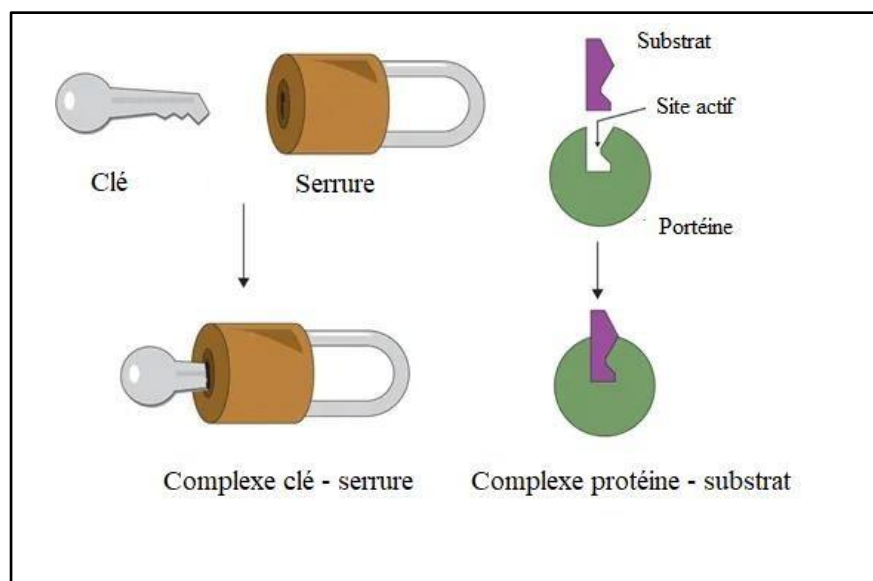


Figure 53: Principe « clé-serrure » (**BioAI, 2019**)

3.2.4.2. Les éléments du docking moléculaire

3.2.4.2.1. Le récepteur

Un récepteur est un organe, une cellule ou une molécule qui assure la réception d'information.

Dans le cas d'une molécule, le récepteur est une protéine avec une structure tridimensionnelle connue et possède un ou plusieurs sites actifs spécifiques, plus ou moins accessibles selon les cas (**Kitchen et al., 2004**).

Dans notre cas, le récepteur est la protéine D-Glucose 1-phosphate.

3.2.4.2.2. Le ligand

Un ligand est un atome, un ion ou une molécule portant des fonctions chimiques lui permettant de se lier à un ou plusieurs atomes ou ions centraux.

En biologie, Un ligand est une molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule spécifique, comme une protéine ou un acide nucléique, jouant généralement un rôle fonctionnel : stabilisation structurelle, catalyse, régulation des enzymes, transmettre un signal.

Le ligand est constitué de deux types :

- ✓ **Endogène ou naturelle** : comme les hormones, neurotransmetteurs et cytokines.
- ✓ **Exogène** : comme les médicaments qui miment ou bloquent les effets d'un ligand endogène (Wang et al., 2002).

Dans notre travail, nos ligands seront les molécules naturelles et synthétiques.

3.2.4.3. Les étapes de docking moléculaire

Le docking moléculaire comprend essentiellement deux étapes :

- 1- **Le docking proprement dit : « étape de sélection »** : il s'agit de placer le ligand dans le site actif de la protéine et de sélectionner les meilleures orientations dans l'espace.
- 2- **Le scoring « étape de classement »** : il s'agit d'évaluer le degré d'affinité entre le ligand et la protéine et de classer les meilleurs scores des poses obtenues.

Nous avons effectué le docking moléculaire grâce au logiciel Autodock vina pour les complexes protéine / ligands pour voir et comparer leurs stabilités et analyser les interactions moléculaires. Les résultats sont présentés dans le chapitre résultats et discussion.

3.2.4.4. Protocole générale du Docking moléculaire

Garrett M. Morris et Marguerita Lim-Wilby ont proposé le protocole typique du docking moléculaire.

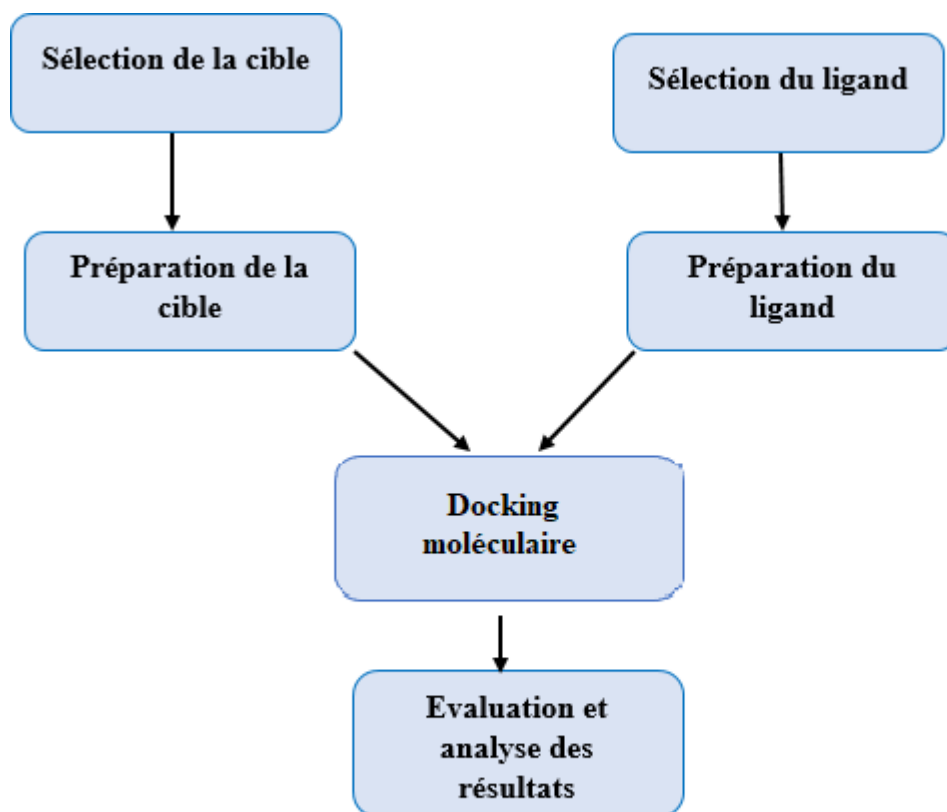


Figure 54: Protocole générale du docking moléculaire (Morris and Lim-Wilby, 2008).

3.2.5. Interactions protéines – ligands

Le docking moléculaire permet l'étude des interactions non-liantes intervenant lors de la formation des complexes. Cette association est assurée grâce à plusieurs types d'interactions.

3.2.6. Les interactions de Van Der Walls

Ils sont le résultat de l'interaction des nuages électroniques de deux atomes proches, ce qui crée une force attractive pour des distances de 3 à 4 Å. Les interactions de van der Waals sont généralement faibles. Ils sont importants en raison du nombre total de liaisons créées (Du et al., 2016).

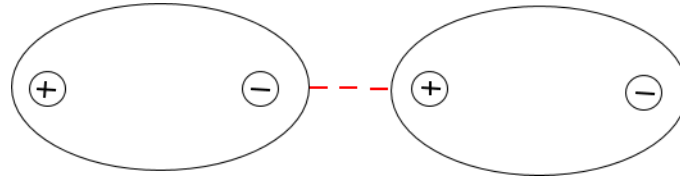


Figure 55: Interaction de Van Der Walls.

3.2.7. Les liaisons hydrogènes

C'est une liaison qui s'implique lorsqu'un atome d'hydrogène lié à un atome électronégatif (le donneur) est attiré par un autre atome électropositif (l'accepteur). Elle fonctionne à une petite distance de 0,8 à 2,8 Å. Les liaisons hydrogènes sont peu nombreuses et très flexibles (Du et al., 2016).

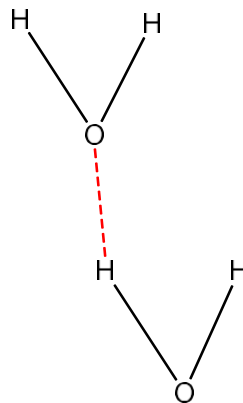


Figure 56: Interaction hydrogène (Du et al., 2016).

3.2.8. Les interactions hydrophobes

Les molécules dépourvues de groupes chargés ou d'atomes capables de former des liaisons hydrogène ne peuvent pas s'hydrater ; elles sont hydrophobes. L'effet hydrophobe est la tendance qu'ont ces groupes à se rassembler par coalescence (Du et al., 2016).

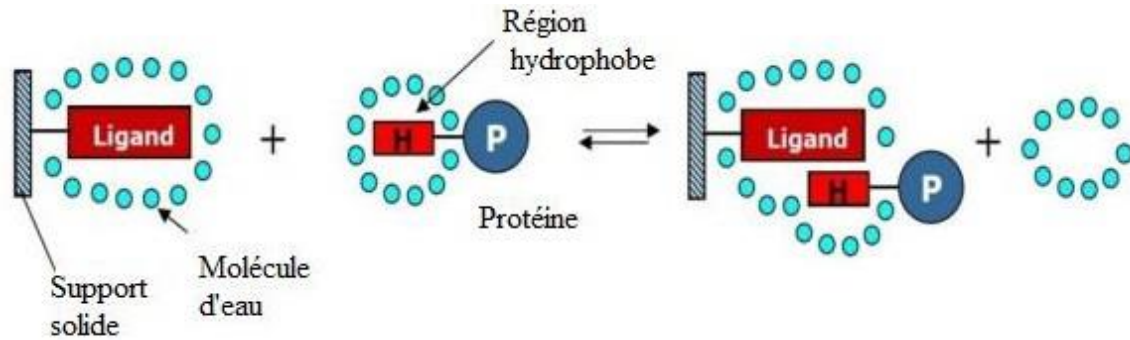


Figure 57: Interaction hydrophobe (Du et al., 2016).

3.2.9. Les interactions électrostatiques

Les interactions électrostatiques interviennent à plus grande distance entre dipôles chargés. Elles sont favorisées du fait de la polarité et de la petite taille de la molécule d'eau en présence de solvant (Du et al., 2016).

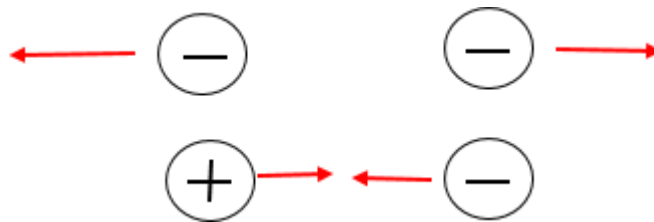


Figure 58: Interaction électrostatique (Du et al., 2016).

3.3. Les paramètres ADME

Une molécule médicamenteuse est efficace si elle atteint sa cible dans le corps avec des concentrations suffisantes, et elle reste bioactive le plus longtemps possible (Tian et al., 2015).

Les projets de développement d'un nouveau médicament consiste de prédire les paramètres ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion), les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la convivialité chimique médicinale d'une ou de plusieurs petites molécules ("<http://www.swissadme.ch>," n.d.).

L'objectif d'une grande variété de méthodes in silico est de prédire les paramètres ADME à partir de la structure moléculaire (Tian et al., 2015).

3.3.1. Règle de LIPINSKI

Selon cette règle, un composé chimique doit avoir des propriétés d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (les propriétés ADME »).

Ainsi, s'il remplit au moins trois de ces cinq critères, un composé chimique sera mieux absorbé pour arriver facilement à son site d'action :

- ✓ Le poids moléculaire maximum (PM) est de 500 g/mol.
- ✓ Le logarithme décimal du coefficient de partage entre l'eau et l'octanol (LogP) est compris entre -2 et 5.
- ✓ Le nombre de donneurs de liaisons hydrogènes (DH) (somme des groupements OH et NH) doit être inférieur ou égal à 5.
- ✓ Le nombre d'accepteurs de liaisons hydrogènes (AH) (somme des atomes O et N) doit être inférieur ou égal à 10.
- ✓ Le nombre de liaisons rotatives (LF) doit être inférieur ou égal à 15 (Lipinski et al., 2001).

Les résultats du test de toxicité et la vérification de la règle de LIPINSKI sont présents dans le chapitre résultats et discussion.

3.4. La modélisation par homologie

La conformation tridimensionnelle de la protéine offre des informations cruciales sur sa fonctionnalité biochimique et ses caractéristiques d'interaction moléculaire.

Néanmoins, la quantité de séquences protéiques identifiées dépasse celle des structures protéiques résolues par des méthodes expérimentales.

En août 2008, la Banque de données des protéines (PDB) comptait environ 52 500 structures protéiques identifiées par expérimentation. Cependant, ce chiffre semble plutôt faible en comparaison de la vaste collection de plus de 6 millions de séquences protéiques stockées dans la base de connaissances Uniprot. Heureusement, l'occurrence de différentes familles de repliement protéique dans la nature semble être limitée. De plus, au sein d'une famille protéique, la similarité de structure entre deux protéines homologues peut être déduite de leur similarité de séquence.

La modélisation d'homologie, également connue sous le nom de modélisation comparative de la structure protéique, est une méthode utilisée pour construire des modèles tridimensionnels d'une protéine (cible) basés sur sa séquence d'acides aminés. Cela est réalisé en alignant la séquence de la protéine cible avec une protéine homologue qui possède déjà une structure connue (modèle) (**Bordoli et al., 2009**).

3.4.1. Les étapes de la modélisation par homologie

3.4.1.1. Identification du modèle

La première étape cruciale consiste à identifier le modèle.

Le processus commence par la localisation des homologues appropriés d'une structure protéique connue, appelés modèles, qui présentent une ressemblance suffisante avec la séquence cible pour être utilisés dans la modélisation (**Tastan Bishop et al., 2008**).

3.4.1.2. Alignement

C'est une étape qui consiste à générer un alignement entre la séquence cible et la ou les structures de modèle.

Assurer une grande précision est une étape cruciale et essentielle, et il existe plusieurs approches pour y parvenir (**Tastan Bishop et al., 2008**).

3.4.1.3. Construction du modèle

Bien que les principes sous-jacents de la construction d'un modèle d'homologie des protéines puissent être complexes, l'utilisation des logiciels existants est très simple. Plusieurs

options de logiciels de modélisation sont accessibles, utilisant différentes techniques pour créer les structures tridimensionnelles (**Tastan Bishop et al., 2008**).

3.4.1.4. Vérification

Une fois construit, le modèle doit subir une validation. Un processus de validation optimal intègre le raisonnement logique, l'expertise biologique et les résultats des instruments analytiques (**Tastan Bishop et al., 2008**).

Le modèle et la structure trois dimensionnelle de la protéine D-Glucose 1-phosphate est conçu grâce au serveur I-TASSER. Les résultats et les figures sont présentés dans le chapitre résultats et discussion.

Partie 02

I. Matériel (Belhadji et al., 2022)

1. Préparation de la protéine

Nous avons téléchargé la protéine Cytochrome c oxidase sous le code pdb 7AU6 à partir de la banque de données RCSB sous la résolution de 2.40 Å.

C'est une oxydoréductase membranaire qui facilite la réaction de réduction de l'oxygène. Elle est composée de 4 chaînes et de 1180 acides aminés au total. La structure tridimensionnelle est présentée dans la figure ci-dessous :

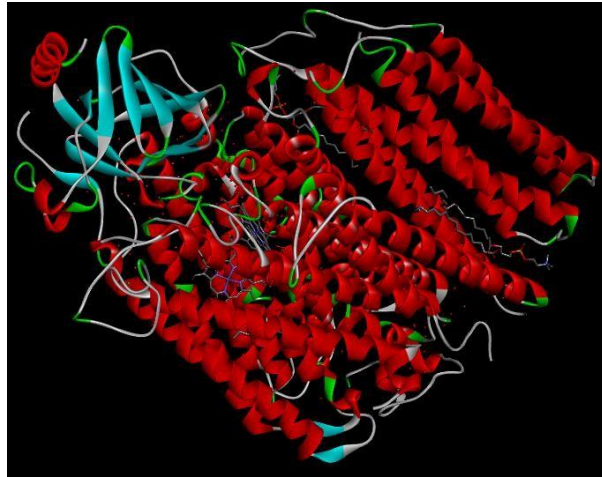


Figure 59: Structure tridimensionnelle de la protéine Cytochrome c oxydase sous le code 7AU6.

Nous avons ainsi téléchargé la protéine Acétylcholinestérase sous le code d'accès 1EEA avec une résolution de 4,50 Å.

C'est une protéine du tissu nerveux composée d'une seule chaîne et de 534 acides aminés. La structure tridimensionnelle est présentée dans la figure ci-dessous :



Figure 60: Structure tridimensionnelle de la protéine Acétylcholinestérase sous le code d'accès 1EEA.

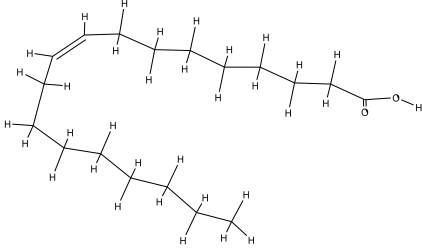
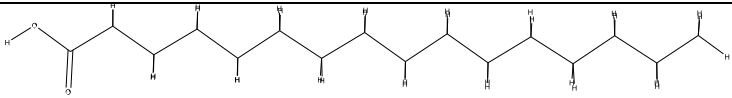
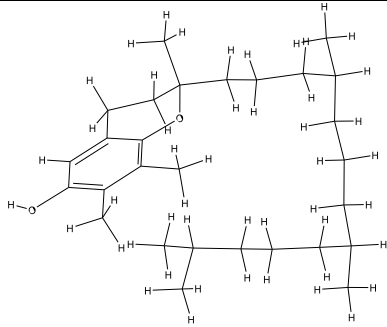
2. Préparation des inhibiteurs

Le but de cette partie du travail est de voir le degré d'affinité entre deux protéines du Varroa ; cytochrome c oxydase et acétylcholinestérase avec une série de molécules extraites de l'huile essentiel de la partie fruit de *Argania spinosa* et faire ensuite une comparaison avec les résultats donnés par les acaricides chimiques.

Les molécules végétales qui font l'objet de cette partie de notre travail sont : Acide oléique, Acide palmitique, Gamma- tocophérol, Schotténol et Palmito – diolène (POO). Ils sont choisis selon le rendement le plus élevé.

Nous avons téléchargé la structure chimique des inhibiteurs à partir de la base de données "PubChem drugbank".

Tableau 17: Structure chimique des molécules naturels (“DrugBank - PubChem Data Source,” n.d.).

Composés chimiques	Structures chimiques
Acide oléique	
Acide palmitique	
Gamma- tocophérol	

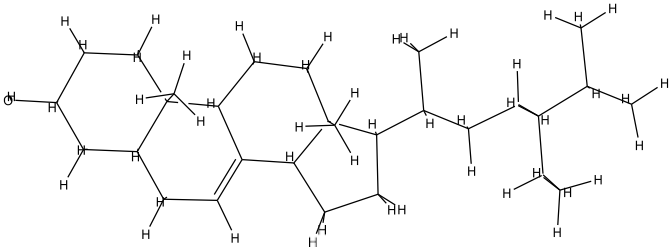
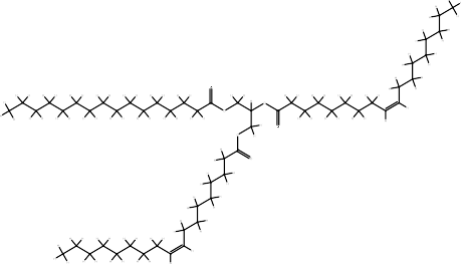
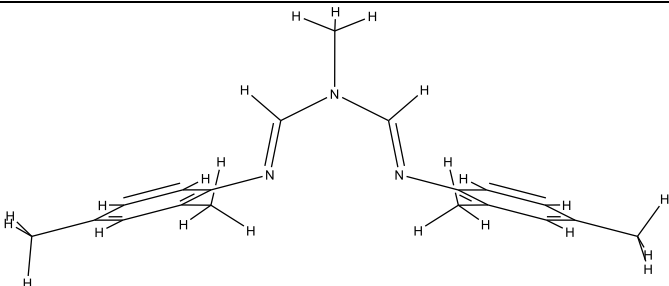
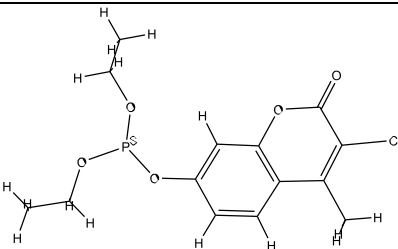
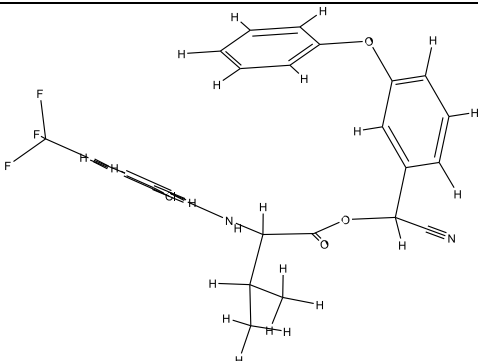
Schotténol	
Palmito – diolène (POO)	

Tableau 18 : Structure chimique des molécules synthétiques (“DrugBank - PubChem Data Source,” n.d.).

Composés chimiques	Structures chimiques
Amitraz	
Coumaphos	
Tau-fluvalinate	

II. Méthodes

Nous avons utilisé dans le présent travail la modélisation moléculaire.

Nous avons effectué le docking moléculaire avec le logiciel PyRx Autodock Vina (version 0.8) entre les protéines Cytochrome c oxydase sous le code d'accès 7AU6 ; Acétylcholinestérase sous le code d'accès 1EEA et les inhibiteurs naturels et chimiques. Nous avons effectué les calculs de la dynamique moléculaire grâce au logiciel GROMACS.

II. Sur terrain

I. Protocole 01

1. Matériel

1.1. Station 01

Nous sommes sortis sur terrain le 02/02/2023 à Hennaya ; la commune de la wilaya de Tlemcen.

Il était midi avec un temps ensoleillé et une température de 11 °C, le vent était à 6 Km/h (↙) et l'humidité à 55%

Le rucher se trouve dans une zone rurale. Nous avons dénombré environ 140 ruches fabriquées en bois rouge. Nous avons noté la présence autour du rucher de grandes culture attractives (en fleurs) pour les abeilles (colza, tournesol, lavandes, maïs, trèfle, agrumes) ; et culture non attractive (céréales, blé, eucalyptus). Nous n'avons pas noté la présence d'une usine ou un élevage de ruminants à proximité du rucher. Le sol est argileux.

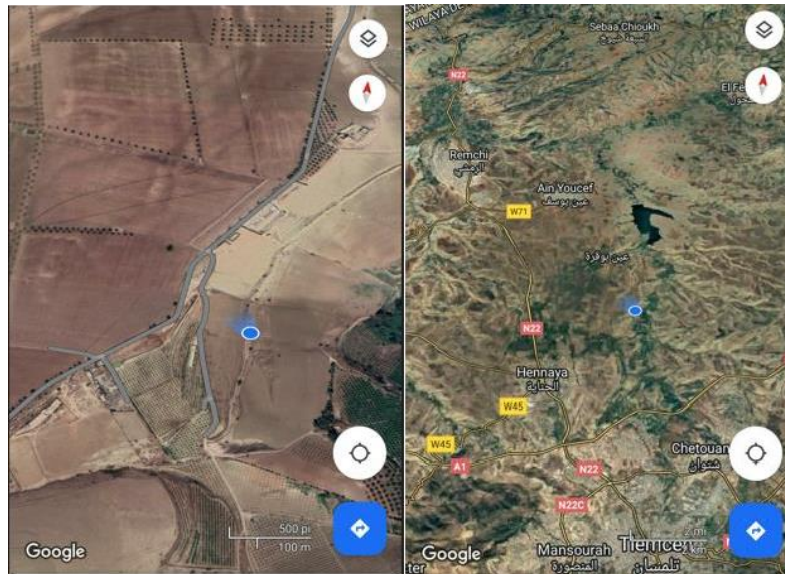


Figure 61: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34° 59' 18.5928" , Longitude : W 1° 20'06.45") (“Google Maps,” 2023).



Figure 62: Rucher dans la station de Hennaya (Belhadji, 2023).

La race de la reine est Italienne. Son âge est entre 01 et 03 ans.

L'apiculteur nourrit ses abeilles avec un sirop (eau + sucre+ compléments alimentaires + vitamines). Les ruches étaient toutes infestées par la Fausse Teigne et le *Varroa destructor*.

Il traite la Fausse Teigne avec le B401 et le *Varroa destructor* avec l'Apivar (Amitraz).



Figure 63 : Lanière d'Apivar insérée dans les cadres de la ruche (Belhadji, 2023).

Nous sommes sorties une deuxième fois dans la même station le 11/04/2023 à 15h. Le temps était ensoleillé et la température était de 27 °C, le vent était à 16 Km/h (↓) et l'humidité à 20 % ; donc il s'agit d'un beau temps et cela pour ne pas agacer les abeilles et appliquer le traitement tranquillement.

1.2. Station 02

Nous sommes sortis sur terrain le 14/04/2023 à Chetouane ; commune de la wilaya de Tlemcen.

Il était 15h avec un temps peu nuageux et une température de 22 °C, le vent était à 16 Km/h (↘) et l'humidité à 20%

Le rucher se trouve dans une zone urbaine. Nous avons dénombré environ 28 ruches fabriquées en bois rouge. Nous avons noté la présence autour du rucher de grandes culture

attractives (et en fleurs) pour les abeilles (colza, tournesol, lavandes, maïs, trèfle, agrumes, amandiers, fèves, eucalyptus) ; et culture non attractive (céréales). Il n’y avait pas une usine près des ruchers mais nous avons noté un élevage de ruminants à proximité du rucher.

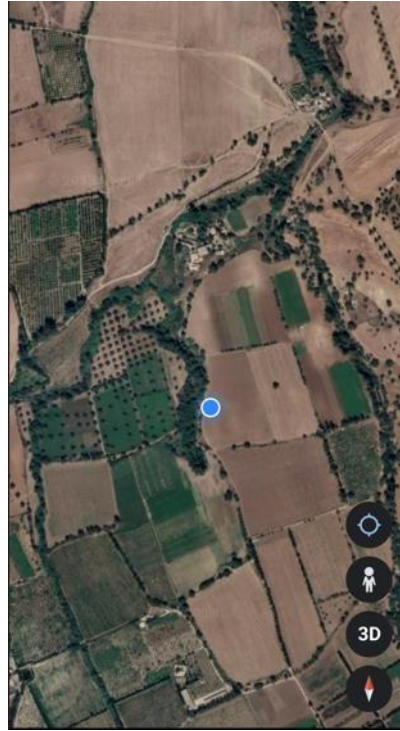


Figure 64: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°54'51.8328", Longitude : W 1°16'49.1232") (“Google Earth,” 2023).



Figure 65: Rucher dans la station de Chetouene (**Belhadji, 2023**).

La race de la reine est Italienne. Son âge est entre 02 et 03 ans.

L'apiculteur nourrit ses abeilles avec un sirop ou une pâte alimentaire. Les ruches étaient toutes infestées par la Fausse Teigne et le *Varroa destructor*. L'apiculteur n'utilisait aucun traitement.



Figure 66: Présence de *Varroa destructor* dans la ruche (Belhadji, 2023).

1.3. Station 03

Nous sommes sortis sur terrain le 01/05/2023 à Mansourah ; la commune de la wilaya de Tlemcen.

Il était 13h30 avec un temps ensoleillé et une température de 26 °C, le vent était à 14 Km/h (↓) et l'humidité à 31%

Le rucher se trouve dans une zone urbaine. Nous avons dénombré environ 10 ruches fabriquées en bois rouge. Nous avons noté la présence autour du rucher de grandes culture attractives (et en fleurs) pour les abeilles (colza, tournesol, lavandes, maïs, trèfle, agrumes, cerisiers, abricotiers, pruniers) ; et culture non attractive (céréales, tomates, oignons). Il n'y avait pas une usine près des ruchers mais nous avons noté un élevage de ruminants à proximité du rucher. Le sol est argileux.

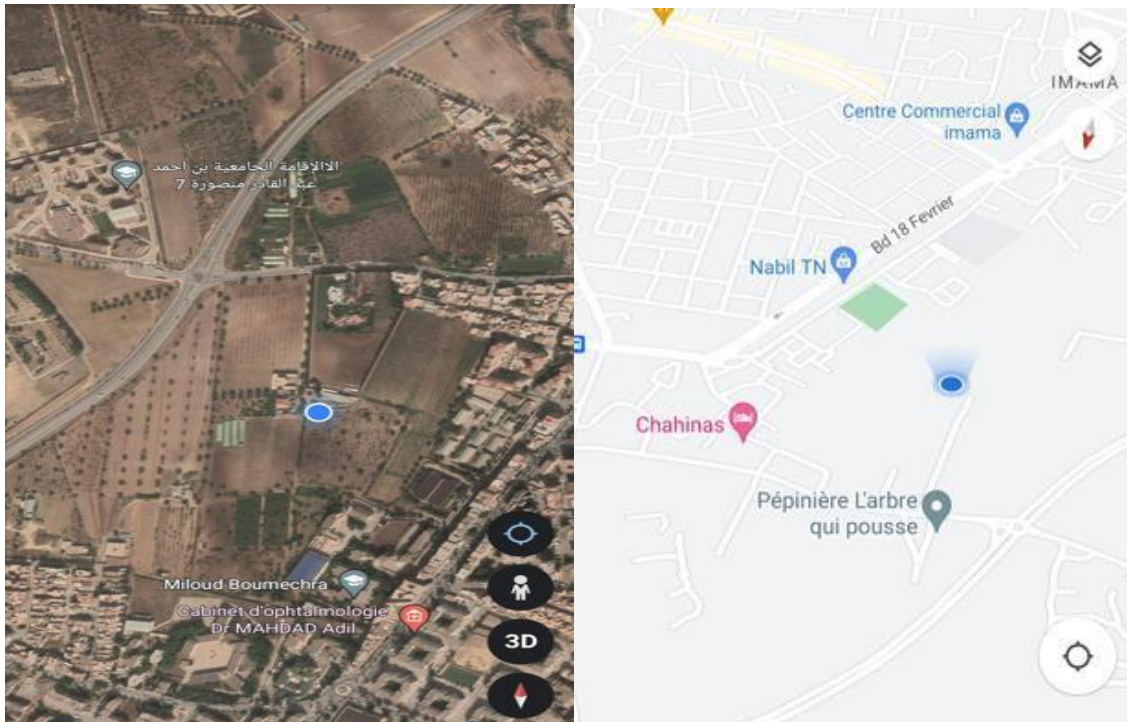


Figure 67: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°53'19.2768"Longitude : W 1°20'30.0048") (“Google Maps,” 2023) (“Google Earth,” 2023).



Figure 68: Rucher dans la station de Mansourah (Belhadji, 2023).

La race de la reine est Italienne. Son âge est entre 01 et 03 ans.

L'apiculteur nourrit ses abeilles avec un sirop ou une pâte protéinée. Les ruches étaient toutes infestées par la Fausse Teigne et le *Varroa destructor*. L'apiculteur utilisait la méthode de cadre à mâle pour lutter contre le *Varroa destructor*.



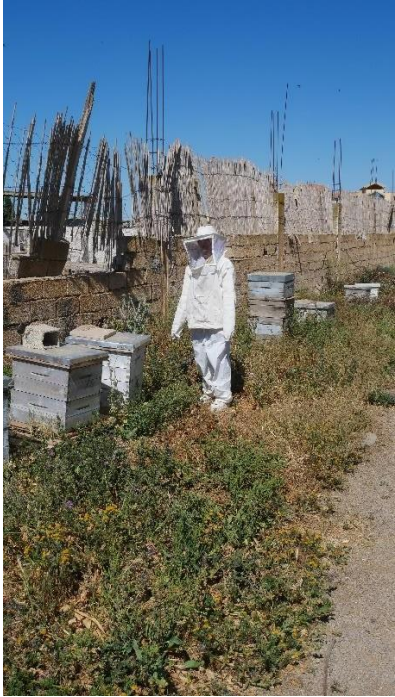
Figure 69: Ruche infestée dans la station de Mansourah (Belhadji, 2023).



Figure 70: Méthode de cadre à mâle (Belhadji, 2023).

Le tableau ci-dessous représente le matériel utilisé lors de nos sorties sur terrain :

Tableau 19: Matériels utilisés sur terrain (Belhadji, 2023).

Habit de protection (combinaison d'apiculteur)	
Enfumeur	
Lève-cadres	

Batônnets de diffusion en bois	
Huile essentielle (<i>Fortunella</i>)	

2. Méthode

Nous nous sommes démarrés du principe de la diffusion. Nous avons mis quelques gouttes de notre huile essentielle dans le batônnet et nous l'avons placé entre les cadres de la ruche (**figure 72**).

Les ruches sur lesquelles nous avons appliqué notre traitement faisaient une diagonale. Les ruches contenaient entre huit et dix cadres donc nous avons placé 2 batônnets entre ces cadres.

Nous avons placé au fond de la ruche un papier blanc pour repérer les Varroas tombés et nous avons étalé de la vaseline sur la feuille pour que le parasite s'accroche.



Figure 71: Feuille blanche au fond de la ruche (Belhadji, 2023).



Figure 72: Batônnets diffuseurs placés entre les cadres de la ruche (Belhadji, 2023).

II. Protocole 02

1. Matériel

1.1. Station 01

Nous avons revisité la station de Mansourah, la commune de la wilaya de Tlemcen le 21/10/2024.

Il était 14h30 avec un temps ensoleillé et une température de 22°C, le vent était à 18 Km/h (↘) et l'humidité à 40 %

Nous sommes sorties le 06/11/2024 à 14h dans la même station. Le temps était ensoleillé, la température de 21°C, le vent était à 6 Km/h (↘) et l'humidité à 51 %

Ensuite nous sommes sorties le 03/12/2024, la température était à 21 °C, le vent était à 5 Km/h (↘) et l'humidité à 35 %

Le 24/01/2025 nous sommes sorties sur terrain. Le temps était ensoleillé, la température 18 °C, le vent était à 8 Km/h (↘) et l'humidité à 30 %

La dernière sortie était le 26/01/2025. La température était de 19 °C, le vent à 13 Km/h (↘) et l'humidité à 28 %

1.2. Station 02

Nous sommes sortis sur terrain le 04/11/2024 à Terni Beni Hadiel ; la commune de la wilaya de Tlemcen.

Il était 15h avec un temps partiellement nuageux et une température de 24 °C, le vent était à 8 Km/h (↘) et l'humidité à 35%

Le rucher se trouve dans une zone rurale. Nous avons dénombré environ 25 ruches fabriquées en bois rouge.



Figure 73: Vue satellite montrant la localisation de la station (Latitude : N 34°53'19.2768"Longitude : W 1°20'30.0048") (“Google Maps,” 2024).



Figure 74: Rucher dans la station Beni Hadiel (Belhadji, 2024).

Pour cette deuxième expérience nous avons eu besoin de :

Tableau 20: Matériels utilisés (Belhadji, 2024).

Habit de protection (combinaison d'apiculteur)	
Enfumeur	
Lève-cadres	
Tube	

Acétone	
Huile essentielle (<i>Fortunella</i>)	
Micro pipette	

2. Méthode

Nous avons repéré les abeilles infestées dans les cadres des ruches à l'œil nu, et nous les avons pris à la main directement dans un Tube.

Nous avons pris cinq abeilles par tube.

Ensuite, nous avons transporté les tubes au niveau du laboratoire de Département d'Ecologie et environnement à l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Nous avons ajouté à l'aide d'une micro pipete de l'acétone pour étaler l'huile dans la totalité du tube. Nous avons ajouté ensuite l'huile essentielle.

Les doses de l'acétone et de l'huile testées sont présentes dans le tableau :

Tableau 21: Doses d'acétone et de l'huile essentielle.

Expérience	Doses acétone (ml)	Doses huile essentielle (µL)
01	1	9
02	1	4.5
03	1	3.5
04	1	3
05	1	2.75
06	1	2.25

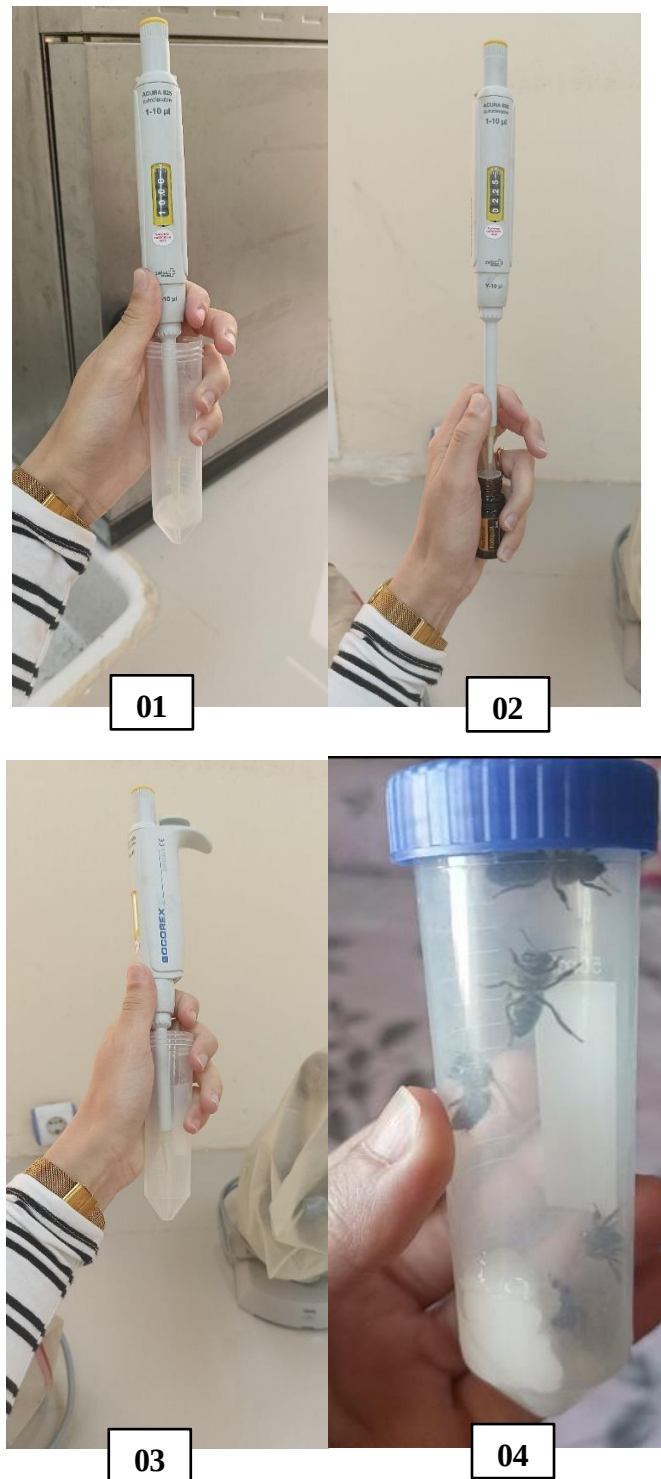


Figure 75: Etapes de l'expérience au niveau du laboratoire ; **1** : mettre de l'acétone, **2** : mettre de l'huile, **3** : appliquer le traitement sur les abeilles, **4** : observer et noter les résultats.

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

1. Etude in silico

Partie 01

Notre travail consiste à tester le pouvoir bioacaricide des huiles essentielles des plantes de la famille des Rutacées pour le contrôle de *Varroa destructor* ; l'ectoparasite des abeilles domestiques (*Apis mellifera*).

Nous présentons dans cette partie les résultats du docking moléculaire, la dynamique moléculaire et l'analyse des interactions entre la protéine de *Varroa destructor* et les molécules naturelles / synthétiques et le ligand de référence.

Les résultats reposent principalement sur la plus faible énergie de liaison, les interactions chimiques établies, ainsi que l'absence de toxicité potentielle pour l'homme.

La discussion s'appuie sur le score, le type et le nombre des interactions, la stabilité des complexes ; les travaux précédents montrant les effets indésirables des molécules synthétiques les plus vendues dans le marché et utilisées par les apiculteurs.

1. Préparation de la protéine

1.1. KEGG pathway

C'est une base de données utilisée pour comprendre les voies biologiques et les fonctions des processus cellulaires (**Kanehisa et al., 2008**).

Les voies sont enregistrées et présentées sous forme de graphiques, où les nœuds sont principalement des molécules (protéines, composés, etc.) et les bords représentent les différentes relations entre les nœuds, telles que l'activation ou la phosphorylation (**Gentleman et al., 2004**).

Nous nous sommes dirigés vers le serveur KEGG pour la recherche des fonctions vitales de *Varroa destructor*.

La figure représente la fonction de la glycolyse et la gluconéogenèse chez le *Varroa destructor*.

Le premier nœud dans le "pathway" (la forme graphique) représente la protéine « D-Glucose 1-phosphate » qui joue un rôle dans la fonction glycolyse / gluconéogenèse (**figure 76, 77**).

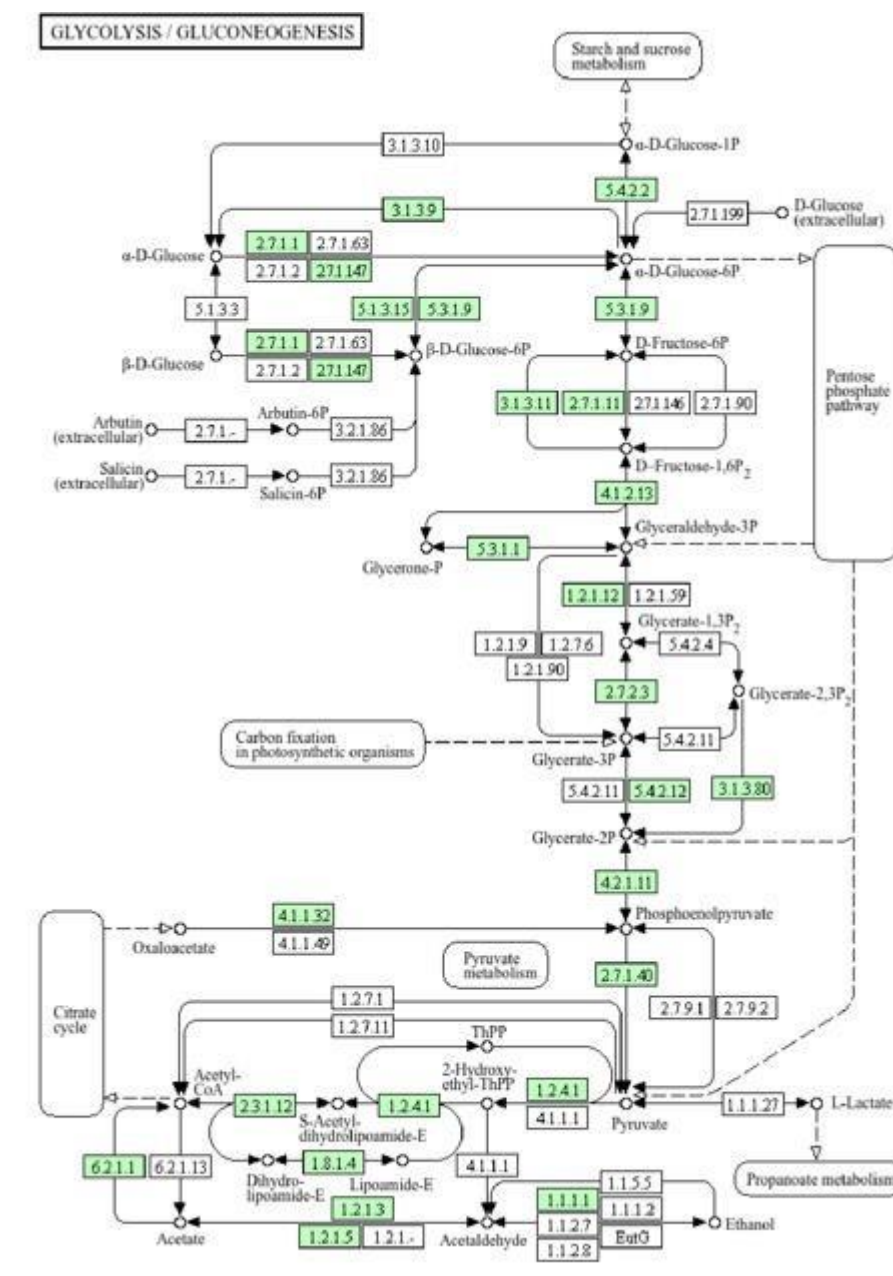
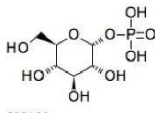


Figure 76: Forme graphique représentant la glycolyse / gluconéogenèse chez le *Varroa destructor* ("https://www.kegg.jp/pathway/map=vde00010&keyword=," n.d.).

 COMPOUND: C00103 Help				
Entry	C00103 Compound			
Name	D-Glucose 1-phosphate; alpha-D-Glucose 1-phosphate; Cori ester; D-Glucose alpha-1-phosphate			
Formula	C6H13O9P			
Exact mass	260.0297			
Mol weight	260.1358			
Structure	 C00103 Mol file KCF file DB search			
Reaction	R00287 R00289 R00304 R00550 R00803 R00947 R00948 R00949 R00951 R00952 R00953 R00954 R00955 R00956 R00957 R00959 R00960 R01233 R01660 R01821 R02111 R02328 R02888 R03116 R04180 R05512 R06018 R06022 R06034 R06050 R06056 R06058 R06061 R06185 R07265 R08514 R08515 R08639 R09752 R10832 R10987 R11128 R11530 R11959 R12243 R12607 R12979 R13002 R13125			
Pathway	map00010 Glycolysis / Gluconeogenesis map00040 Pentose and glucuronate interconversions map00052 Galactose metabolism map00500 Starch and sucrose metabolism map00520 Amino sugar and nucleotide sugar metabolism map00521 Streptomycin biosynthesis map00523 Polyketide sugar unit biosynthesis map00525 Acarbose and validamycin biosynthesis map00541 O-Antigen nucleotide sugar biosynthesis map00561 Glycerolipid metabolism map01060 Biosynthesis of plant secondary metabolites map01100 Metabolic pathways map01110 Biosynthesis of secondary metabolites map01120 Microbial metabolism in diverse environments map01240 Biosynthesis of cofactors map01250 Biosynthesis of nucleotide sugars map04922 Glucagon signaling pathway			
Module	M00129 Ascorbate biosynthesis, animals, glucose-1P => ascorbate M00549 Nucleotide sugar biosynthesis, glucose => UDP-glucose M00565 Trehalose biosynthesis, D-glucose 1P => trehalose M00632 Galactose degradation, Leloir pathway, galactose => alpha-D-glucose-1P M00793 dTDP-L-rhamnose biosynthesis M00854 Glycogen biosynthesis, glucose-1P => glycogen/starch M00855 Glycogen degradation, glycogen => glucose-6P			
Network	nt06017 Glycogen metabolism			
Enzyme	2.4.1.1 2.4.1.7 2.4.1.20 2.4.1.30 2.4.1.31 2.4.1.49 2.4.1.97 2.4.1.139 2.4.1.231 2.4.1.321 2.4.1.329 2.4.1.333 2.4.1.342 2.4.1.352 2.4.1.359 2.4.1.388 2.4.1.389 2.4.1.392 2.7.1.10 2.7.1.41 2.7.1.42 2.7.1.62 2.7.1.106 2.7.7.9 2.7.7.12 2.7.7.24 2.7.7.27 2.7.7.33 2.7.7.34 2.7.7.36 2.7.7.64 2.7.7.69 2.7.7.78 3.1.3.10 3.1.4.51 3.6.1.9 3.6.1.21 3.6.1.45 3.6.1.- 5.4.2.2 » show all			
Other DBs	CAS: 59-56-3 PubChem: 3403 ChEBI: 29042 KNApSAC: C00007482 PDB-CCD: G1P[PDBj] 3DMET: B04634 NIKKAJI: J40.065C			
LinkDB	All DBs			
KCF data	Show			

» Japanese version

DBGET integrated database retrieval system

Figure 77: D-Glucose 1-phosphate, protéine chez le *Varroa destructor*
 (“<https://www.kegg.jp/entry/C00103>,” n.d., p. 001).

1.2. Uniprot

Uniprot est une base de données universelle pour le téléchargement des structures 3D des protéines.

La protéine D-Glucose 1-phosphate avec le «EC number » 2.7.7.78 ; est notée sur la base de données comme étant « déduit de l'homologie » avec une annotation de 2/5 (**figure 78**). Cela implique que la structure 3D de la protéine n'est pas disponible sur Uniprot ni sur la base de données universelle RCSB.

The screenshot displays the UniProt entry for A0A7M7JAW2 (A0A7M7JAW2_VARDE). The left sidebar lists various categories: Function, Names & Taxonomy, Subcellular Location, Phenotypes & Variants, PTM/Processing, Expression, Interaction, Structure, Family & Domains, Sequence, and Similar Proteins. The main content area shows the protein's name, status, organism, and amino acid count. It also indicates that the protein's existence is inferred from homology and provides an annotation score of 2/5. The function is described as 'Specific and highly efficient GDP-D-glucose phosphorylase regulating the levels of GDP-D-glucose in cells.' The catalytic activity is listed as 'GDP-alpha-D-glucose + phosphate = alpha-D-glucose 1-phosphate + GDP + H+' with EC number 2.7.7.78. The entry is linked to Rhea 30387.

Figure 78: Résultat de la recherche de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor* sur Uniprot

(“<https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A7M7JAW2/entry#function>,” n.d.).

1.3. BLAST

Le serveur BLAST nous a permis d'insérer la séquence de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor* pour faire un alignement et analyser le degré de ressemblance entre cette dernière et les séquences chez l'homme, *Homo sapiens* ; et chez les abeilles domestiques, *Apis mellifera*.

La **figure 79** représente les résultats de l'alignement.

Sequences producing significant alignments		Download	Select columns	Show	100				
☒ select all 100 sequences selected		GenPept	Graphics	Distance tree of results	Multiple alignment	MSA Viewer			
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Varroa destructor]	Varroa destructor	683	683	100%	0.0	100.00%	328	XP_022649286.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Varroa jacobsoni]	Varroa jacobsoni	682	682	100%	0.0	99.70%	328	XP_022695850.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Galendromus occidentalis]	Galendromus occidentalis	355	355	94%	2e-118	54.84%	333	XP_018495455.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Dermacentor andersoni]	Dermacentor andersoni	257	257	91%	2e-79	43.40%	358	XP_050036678.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Limulus polyphemus]	Limulus polyphemus	253	253	94%	6e-78	39.94%	359	XP_013784966.2
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Dermacentor silvarum]	Dermacentor silvarum	251	251	93%	2e-77	41.95%	346	XP_049526102.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Ixodes scapularis]	Ixodes scapularis	251	251	96%	2e-77	41.42%	347	XP_040070139.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Dermacentor silvarum]	Dermacentor silvarum	251	251	91%	3e-77	42.01%	358	XP_037575037.1
☒	hypothetical protein HPB49_020586 [Dermacentor silvarum]	Dermacentor silvarum	253	253	92%	4e-77	42.11%	407	KAH7942104.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Ixodes scapularis]	Ixodes scapularis	250	250	96%	6e-77	41.42%	347	XP_029822600.2
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Rhipicephalus sanguineus]	Rhipicephalus sanguineus	249	249	96%	1e-76	39.53%	346	XP_037501607.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X1 [Rhipicephalus microplus]	Rhipicephalus microplus	246	246	93%	2e-75	40.37%	347	XP_037274248.1
☒	hypothetical protein HPB51_014940 [Rhipicephalus microplus]	Rhipicephalus microplus	243	243	93%	3e-74	40.85%	348	KAH8028284.1
☒	conserved hypothetical protein [Ixodes scapularis]	Ixodes scapularis	239	239	96%	9e-73	39.19%	357	EFC19398.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X5 [Schistocerca gregaria]	Schistocerca gregaria	239	239	92%	2e-72	43.57%	342	XP_049767751.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Schistocerca piceifrons]	Schistocerca piceifrons	238	238	92%	4e-72	43.40%	342	XP_047098158.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Centruroides sculpturatus]	Centruroides sculpturatus	238	238	93%	4e-72	38.60%	351	XP_023224490.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Schistocerca gregaria]	Schistocerca gregaria	237	237	92%	6e-72	43.08%	342	XP_049840090.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Schistocerca nitens]	Schistocerca nitens	237	237	92%	6e-72	42.77%	342	XP_049794010.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Ixodes scapularis]	Ixodes scapularis	237	237	96%	1e-71	38.57%	372	XP_040358274.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Leptopilina boulardi]	Leptopilina boulardi	236	236	89%	2e-71	42.02%	353	XP_051170217.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Schistocerca piceifrons]	Schistocerca piceifrons	234	234	92%	1e-70	43.40%	341	XP_047098161.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Schistocerca nitens]	Schistocerca nitens	233	233	92%	2e-70	42.77%	341	XP_049794011.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Schistocerca americana]	Schistocerca americana	233	233	92%	2e-70	42.45%	342	XP_046979501.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Schistocerca serialis cubense]	Schistocerca serialis cubense	233	233	92%	3e-70	42.45%	342	XP_049942323.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Uloborus diversus]	Uloborus diversus	231	231	92%	2e-69	39.38%	351	XP_054708802.1
☒	hypothetical protein JTE90_022986 [Oedothorax gibbosus]	Oedothorax gibbosus	231	231	93%	2e-69	40.36%	375	KAG8193358.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X3 [Schistocerca piceifrons]	Schistocerca piceifrons	230	230	92%	3e-69	43.08%	339	XP_047098162.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X3 [Schistocerca nitens]	Schistocerca nitens	229	229	92%	7e-69	42.45%	339	XP_049794012.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Schistocerca serialis cubense]	Schistocerca serialis cubense	229	229	92%	8e-69	42.45%	341	XP_049942324.1
☒	PREDICTED: GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Priapulus caudatus]	Priapulus caudatus	229	229	86%	1e-68	41.50%	361	XP_014667293.1
☒	hypothetical protein HPB48_012284 [Haemaphysalis longicornis]	Haemaphysalis longicornis	227	227	82%	1e-68	42.36%	310	KAH9376081.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X1 [Stegodyphus dumicola]	Stegodyphus dumicola	226	226	91%	2e-67	39.18%	351	XP_035224722.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Stegodyphus dumicola]	Stegodyphus dumicola	226	226	91%	2e-67	39.18%	348	XP_035224723.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Schistocerca americana]	Schistocerca americana	225	225	92%	3e-67	42.14%	339	XP_046979503.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X3 [Schistocerca serialis cubense]	Schistocerca serialis cubense	225	225	92%	4e-67	42.14%	339	XP_049942326.1
☒	unnamed protein product [Nezara viridula]	Nezara viridula	224	224	93%	7e-67	41.30%	343	CAH1400077.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Crassostrea virginica]	Crassostrea virginica	223	223	91%	1e-66	38.01%	344	XP_022333297.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X3 [Stegodyphus dumicola]	Stegodyphus dumicola	223	223	91%	1e-66	39.37%	347	XP_035224725.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Candoia aspera]	Candoia aspera	226	226	89%	2e-66	42.12%	421	XP_063170223.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Schistocerca gregaria]	Schistocerca gregaria	223	223	92%	4e-66	40.06%	370	XP_049767747.1
☒	hypothetical protein QYM36_012680 [Artemia franciscana]	Artemia franciscana	220	220	91%	2e-65	38.59%	328	KAK2711607.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Trichonephila clavata]	Trichonephila clavata	219	219	89%	4e-65	39.12%	344	GFQ67738.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Halyomorpha halys]	Halyomorpha halys	219	219	93%	4e-65	40.87%	344	XP_014279244.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Silurus meridionalis]	Silurus meridionalis	219	219	92%	7e-65	39.02%	363	KAI5100585.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Daphnia pulex]	Daphnia pulex	220	220	93%	7e-65	36.34%	366	XP_046642119.1
☒	hypothetical protein M8J76_004941 [Diaphorina citri]	Diaphorina citri	218	218	92%	2e-64	37.31%	354	KAI5732857.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Silurus meridionalis]	Silurus meridionalis	218	218	92%	4e-64	38.72%	363	XP_046715799.1
☒	GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X3 [Vespa crabro]	Vespa crabro	216	216	89%	5e-64	40.00%	316	XP_046825384.1

✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X1 [Vespa mandarinia]	Vespa mandarinia	216	216	89%	6e-64	39.67%	342	XP_035743381.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Clarias gariepinus]	Clarias gariepinus	217	217	92%	7e-64	40.62%	351	XP_053340786.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Pipistrellus kuhlii]	Pipistrellus kuhlii	218	218	86%	8e-64	43.09%	387	XP_036271461.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Vespa crabro]	Vespa crabro	216	216	89%	1e-63	40.00%	342	XP_046825381.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Vespa velutina]	Vespa velutina	216	216	89%	1e-63	40.00%	343	XP_047357669.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X1 [Uloborus diversus]	Uloborus diversus	216	216	82%	2e-63	41.24%	375	XP_054708801.1
✓ hypothetical protein DAPPUDRAFT_100309 [Daphnia pulex]	Daphnia pulex	216	216	91%	2e-63	38.89%	351	EFX83789.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Eublepharis macularius]	Eublepharis macularius	216	216	92%	2e-63	39.82%	378	XP_054858968.1
✓ hypothetical protein GHT06_020863 [Daphnia sinensis]	Daphnia sinensis	215	215	87%	2e-63	40.79%	340	KAI9552977.1
✓ hypothetical protein GHT06_010768 [Daphnia sinensis]	Daphnia sinensis	216	216	88%	2e-63	40.13%	357	KAI9563310.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Daphnia magna]	Daphnia magna	216	216	89%	2e-63	40.00%	357	KZS12327.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Daphnia pulicaria]	Daphnia pulicaria	215	215	91%	2e-63	38.89%	351	XP_046656704.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X3 [Ixodes scapularis]	Ixodes scapularis	214	214	96%	2e-63	38.46%	325	XP_040070138.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Triphophya rosa]	Triphophya rosa	215	215	88%	3e-63	40.71%	350	XP_057185957.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Daphnia magna]	Daphnia magna	215	215	88%	3e-63	40.06%	357	XP_032789201.1
✓ hypothetical protein OUZ56_014883 [Daphnia magna]	Daphnia magna	215	215	88%	3e-63	40.06%	357	KAK4025837.1
✓ hypothetical protein Q7C36_015082 [Tachysurus vachellii]	Tachysurus vachellii	215	215	92%	3e-63	38.77%	355	KAK2834381.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Leptopilina heterotoma]	Leptopilina heterotoma	215	215	86%	3e-63	39.06%	352	XP_043471618.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Schistocerca gregaria]	Schistocerca gregaria	215	215	92%	3e-63	39.77%	367	XP_049767748.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Crassostrea angulata]	Crassostrea angulata	214	214	90%	4e-63	37.30%	346	XP_052696342.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Daphnia carinata]	Daphnia carinata	214	214	87%	4e-63	40.40%	340	XP_057381004.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Tachysurus vachellii]	Tachysurus vachellii	215	215	92%	4e-63	38.77%	355	XP_060742374.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Nasonia vitripennis]	Nasonia vitripennis	214	214	86%	4e-63	39.66%	348	XP_003425937.1
✓ hypothetical protein CIB84_002441 [Bambusicola thoracicus]	Bambusicola thoracicus	215	215	92%	5e-63	40.43%	367	POI33805.1
✓ hypothetical protein OUZ56_026735 [Daphnia magna]	Daphnia magna	214	214	87%	5e-63	40.40%	340	KAK40114203.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Monomorium pharaonis]	Monomorium pharaonis	214	214	92%	5e-63	40.13%	336	XP_012524633.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Silurus asotus]	Silurus asotus	215	215	92%	6e-63	38.11%	363	KAI5626918.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Anneissia japonica]	Anneissia japonica	214	214	87%	6e-63	38.85%	352	XP_033101140.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Xenia sp. Carnegie-2017]	Xenia sp. Carnegie-2017	214	214	88%	7e-63	39.14%	354	XP_046858004.1
✓ hypothetical protein Cfor_09454 [Coptotermes formosanus]	Coptotermes formosanus	214	214	82%	9e-63	43.94%	345	GFG36752.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Gryllus bimaculatus]	Gryllus bimaculatus	214	214	91%	9e-63	39.62%	348	GLH09053.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Acanthaster planci]	Acanthaster planci	214	214	87%	1e-62	40.44%	363	XP_022095681.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Talpa occidentalis]	Talpa occidentalis	214	214	89%	1e-62	41.61%	379	XP_037367320.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Echinops telfairi]	Echinops telfairi	214	214	81%	1e-62	42.20%	385	XP_004708159.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like isoform X2 [Vespa mandarinia]	Vespa mandarinia	213	213	89%	1e-62	39.67%	341	XP_035743382.1
✓ PREDICTED: GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Saccoglossus kowalevskii]	Saccoglossus kowalevskii	214	214	88%	1e-62	38.87%	372	XP_002735196.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Melanaphis sacchari]	Melanaphis sacchari	213	213	88%	1e-62	37.83%	342	XP_025197820.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X1 [Echinops telfairi]	Echinops telfairi	215	215	80%	1e-62	42.65%	393	XP_045142319.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Daphnia pulex]	Daphnia pulex	213	213	91%	1e-62	38.58%	351	XP_046455938.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Pimephales promelas]	Pimephales promelas	213	213	92%	1e-62	38.94%	348	XP_039512971.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Hemicordylus capensis]	Hemicordylus capensis	215	215	95%	1e-62	38.15%	406	XP_053128418.1
✓ hypothetical protein TSAR_014984 [Trichomalopsis sarcophagae]	Trichomalopsis sarcophagae	213	213	86%	1e-62	39.32%	349	OXU23353.1
✓ unnamed protein product [Daphnia galeata]	Daphnia galeata	213	213	87%	2e-62	37.30%	357	CAH0113649.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Ostrea edulis]	Ostrea edulis	213	213	89%	2e-62	37.90%	347	XP_048737147.2
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1-like [Mytilus trossulus]	Mytilus trossulus	213	213	92%	2e-62	37.95%	358	XP_063427915.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Vespa crabro]	Vespa crabro	213	213	89%	2e-62	40.00%	341	XP_046825382.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 isoform X2 [Vespa velutina]	Vespa velutina	213	213	89%	2e-62	40.00%	342	XP_047357671.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Python bivittatus]	Python bivittatus	213	213	89%	2e-62	40.76%	373	XP_007433686.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Crotalus tigris]	Crotalus tigris	213	213	87%	3e-62	41.45%	368	XP_039218018.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Sorex fumeus]	Sorex fumeus	213	213	86%	3e-62	43.71%	380	XP_055970064.1
✓ GDP-D-glucose phosphorylase 1 [Danio rerio]	Danio rerio	212	212	86%	3e-62	41.28%	343	NP_001071021.1

Figure 79: Résultats d’alignement des séquences de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor* (“<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#>,” n.d.).

Le serveur a donné 100 résultats de similarité avec le *Varroa destructor*, et la plupart d'entre eux ont montré une couverture des requêtes entre 100 à 80 %

Les résultats de l'alignement ont montré une ressemblance de 100 % avec l'espèce *Varroa jacobsoni*.

Les autres espèces qui ont montré une couverture entre 96 et 80 % appartiennent à des multiples genres et familles. Nuls d'autres eux appartiennent à des espèces humaines ou/et des espèces d'abeilles.

Cela nous emmène à conclure que le traitement que nous proposerons à la fin de cette étude n'affectera ni l'homme ni les abeilles dans les ruches.

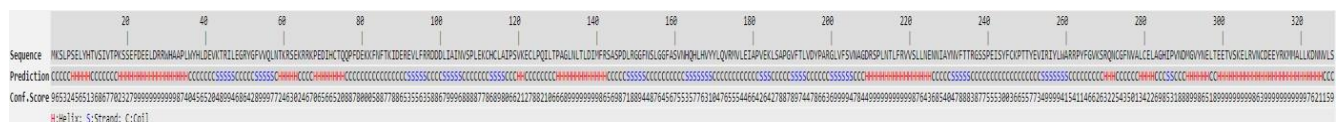
1.4. Modélisation par homologie

Nous avons soumis une demande au serveur I – TASSER pour nous construire la structure 3D de la protéine D-Glucose 1-phosphate à partir des modèles structurels connus comme des "templates".

>protein

MKSLPSELYHTVSIVTPKSSEFDEELDRRWHAAPLWYHLDEVKTRILEGRYGFVVQLNTK
RSEKRRKPEDIHCTQQPFDEKKFNFTKIDEREVLFRRDDDLIAINVSPLEKCHCLAIPSV
KECLPQILTPAGLNLTLDIMFRSASPDLRGGFNSLGGFASVNHQHLHVYYLQVRMVLEIA
PVEKLSAPGVFTLVDPARGLVFSVNAGDRSPNLTLFRVVSLLNENNIAYNVFTTRGSSP
EISYFCKPTTYEVIRIYLWARRPYFGVKSRQNCGFNVALCELAGHIPVNDMGVYNELTEE
TVSKELRVNCDEEYRKMMALLKDNNVLS

Ci-dessus est la séquence de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor* que nous avons soumis au serveur I – TASSER.



En haut la structure secondaire prédite par le serveur.



La structure ci – dessus représente l’accessibilité prédite des solvants.

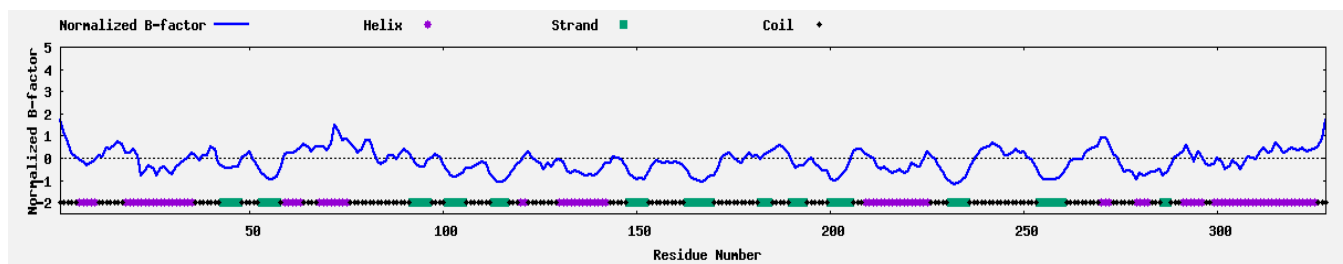


Figure 80: Facteur B normalisé prédit.

Le facteur B correspond à la mesure de la mobilité thermique des résidus/atomes à se déplacer dans les protéines.

Cette valeur est calculée dans I-TASSER en utilisant les protéines modèles de "thread" de la banque de donnée PDB en collaboration avec les profils de séquence dérivés des bases de données de séquences.

Le "threading" est une technique de modélisation de la structure des protéines qui cherche à déterminer la structure tridimensionnelle d'une protéine en utilisant des modèles structurels connus comme des "templates".

Tableau 22: Top 10 des modèles de "thread" utilisés par I-TASSER.

Rank	PDB Hit	I den1	I den2	Cov	Norm. Z-score	Download Align.
1	4i5tA	0.18	0.20	0.81	2.32	Download
2	6zsvA	0.12	0.18	0.76	0.58	Download
3	4i5t	0.16	0.20	0.81	4.24	Download
4	4i5t	0.15	0.20	0.81	3.24	Download
5	4i5tA	0.18	0.20	0.82	1.57	Download
6	4i5t	0.13	0.20	0.83	5.23	Download
7	4i5tA	0.17	0.20	0.78	2.21	Download
8	4i5tA	0.17	0.20	0.80	1.05	Download
9	7to3C	0.11	0.20	0.92	1.07	Download
10	4i5tA	0.14	0.20	0.87	2.02	Download

La modélisation avec le serveur I-TASSER part des modèles de structure identifiés par LOMETS à partir de la bibliothèque PDB.

LOMETS est une méthode de "threading" méta-serveur qui comprend plusieurs programmes de "threading", chaque programme de "threading" pouvant générer des dizaines de milliers d'alignements de modèles.

I-TASSER utilise uniquement les modèles les plus significatifs dans les alignements de "threading".



Modèle 01

Score C = -1.20

Score TM estimé = 0.56 ± 0.15

RMSD estimée = $9.1 \pm 4.6 \text{ \AA}$



Modèle 02

Score C = -1.59



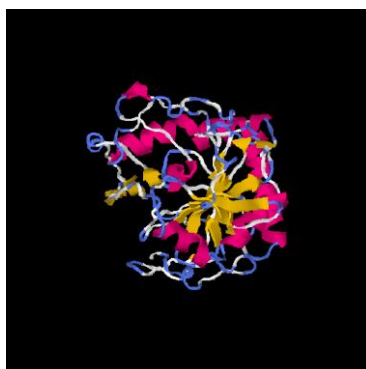
Modèle 03

Score C = -2.76



Modèle 04

Score C = -3.98



Modèle 05

Score C = -2.37

Figure 81: Top 5 des modèles finaux prédits par I-TASSER.

Les simulations avec le serveur I-TASSER génèrent un large ensemble de conformations structurales, appelées "decoys".

I-TASSER utilise le programme SPICKER afin de regrouper tous les "decoys" en fonction de la similarité de structure par paire, et fournit jusqu'à cinq modèles correspondant aux cinq groupes de structures les plus importants.

Le score C, calculé en fonction de l'importance des alignements des modèles de "threading" et des paramètres de convergence des simulations d'assemblage de structure, évalue la confiance de chaque modèle.

En général, le score C se situe entre [-5, 2], où une valeur plus élevée du score C indique un modèle avec une confiance accrue, et inversement.

La RMSD correspond à la distance moyenne entre toutes les paires de résidus dans deux structures, une erreur locale (comme une mauvaise orientation de la queue) entraînera une valeur RMSD élevée même si la topologie globale est normale.

Le score TM mesure la similitude structurale entre deux structures. Le score TM a pour objectif de résoudre le problème du RMSD qui est sensible à l'erreur locale.

Toutefois, dans le score TM, la petite distance est plus importante que la grande distance, ce qui rend le score insensible à l'erreur de modélisation du terrain. Un score TM supérieur à 0,5 indique une topologie correcte et un score TM inférieur à 0,17 fait référence à une similarité aléatoire. Ce seuil ne dépend pas de la longueur de la protéine.

Tableau 23: Top 10 des analogues structuraux identifiés dans la bibliothèque PDB.

Click to view	Rank	PDB Hit	TM-score	RMSD ^a	IDEN ^a	Cov	Alignment
	1	4i5tA	0.775	1.83	0.149	0.820	Download
	2	6k5zA	0.531	4.37	0.117	0.701	Download
	3	2gdkB	0.515	4.15	0.112	0.665	Download
	4	5in3B	0.506	4.89	0.096	0.692	Download
	5	1guqA	0.501	4.53	0.076	0.674	Download
	6	2pofA	0.449	3.80	0.124	0.552	Download
	7	4qvuA	0.444	3.82	0.082	0.543	Download
	8	5yfbA	0.444	6.46	0.026	0.744	Download
	9	2tysB	0.420	6.63	0.066	0.707	Download
	10	5zumA	0.419	6.68	0.049	0.723	Download

Une fois que la simulation de l'assemblage de structure est terminée, I-TASSER utilise le programme d'alignement structurel « TM-align » afin de faire correspondre le premier modèle I-TASSER à toutes les structures de la bibliothèque PDB.

Nous exposons les 10 protéines principales de la PDB qui présentent la plus grande similarité structurale, c'est-à-dire le score TM le plus élevé, par rapport au modèle I-TASSER prédictif.

Ces protéines ont souvent une fonction proche de celle de la cible en raison de la similitude structurale.

TM-align est une méthode utilisée pour comparer des structures protéiques qui ne sont pas liées à la séquence.

D'après les résultats obtenus par le serveur I-TASSER ; le premier modèle représente le score C le plus élevé (score C = -1.20) et un score TM compris entre 0.71 et 0.41. Nous avons pris donc le premier modèle parmi les quatre autres ; comme étant la structure 3D de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor*.

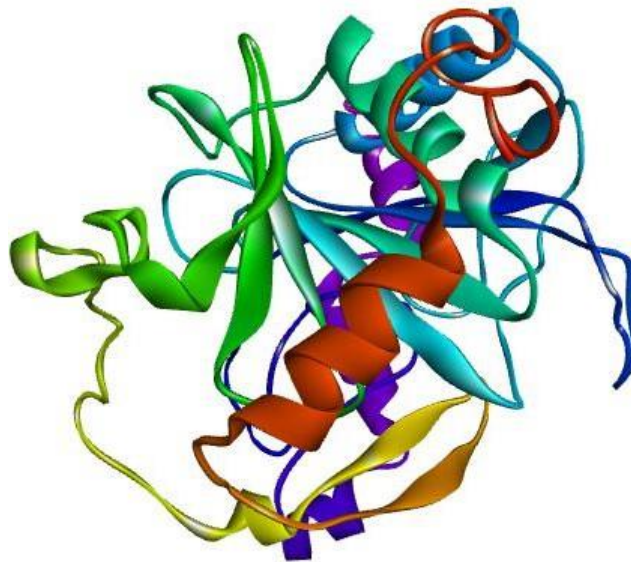


Figure 82: Structure 3D de la protéine D-Glucose 1-phosphate chez le *Varroa destructor* par homologie.

1.4.1. Détermination du site actif de la protéine et le ligand de référence

Le serveur I-TASSER nous a déterminé le site actif et le ligand de référence de la protéine D-Glucose 1-phosphate (**tableau 24**).

Tableau 24: Détermination du site actif de la protéine.

Rank	C-score	Cluster size	PDB Hit	Lig Name	Download Complex	Ligand Binding Site Residues
1	0.22	15	4i5wA AMP	Rep. Mult	Rep. Mult	84,85,104,105,106,115,153,158,159,160,161,165,167
2	0.22	8	4i5vA B4P	Rep. Mult	Rep. Mult	66,84,85,92,104,105,106,107,109,113,115,153,158,159,160,161,167,169,278,280,285,289
3	0.07	4	4i5wB AMP	Rep. Mult	Rep. Mult	105,107,109,110,113,167,169,278,280,285,287,289
4	0.06	5	1hz5A ZN		N/A	163,165
5	0.02	2	3sioJ k-mer		N/A	105,107,113

- ✓ **Cluster size** : est le nombre total des modèles.
- ✓ **Lig name** : nom du ligand de référence.
- ✓ **Rep** : structure complexe unique avec le ligand le plus représentatif.
- ✓ **Mult** : structures complexes avec tous les ligands de liaison.

Tableau 25: Acides aminés composant le site actif.

Rang	Acides aminés	Abréviations
84	Asparagine	ASN
85	Phénylalanine	PHE
104	Isoleucine	ILE
105	Asparagine	ASN
106	Valine	VAL
115	Leucine	LEU
153	Asparagine	ASN
158	Phénylalanine	PHE
159	Alanine	ALA
160	Sérine	SER
161	Valine	VAL
165	Histidine	HIS
167	Histidine	HIS

Donc les acides aminés qui composent le site actif de la protéine sont : ASN84, PHE85, ILE104, ASN105, VAL106, LEU115, ASN153, PHE158, ALA159, SER160, VAL161, HIS165, HIS167.

Adénosine monophosphate (AMP) est le ligand de référence de la protéine D-Glucose 1-phosphate. Sa formule chimique est $C_{10}H_{14}N_5O_7P$. Son poids moléculaire est de 347.22 g/mol.

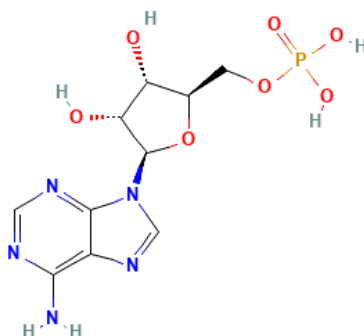


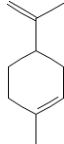
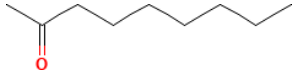
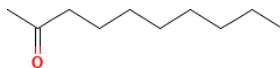
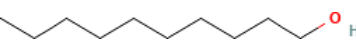
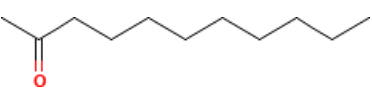
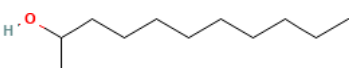
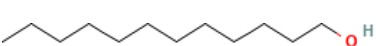
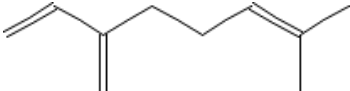
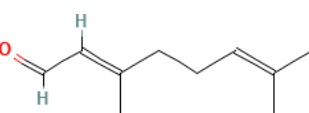
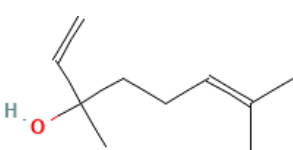
Figure 83: Structure chimique 2D d'Adénosine monophosphate (“DrugBank - PubChem Data Source,” n.d.)

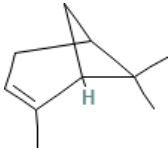
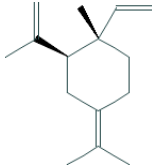
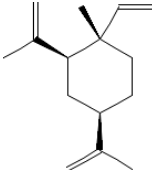
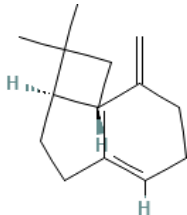
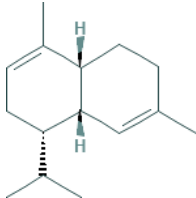
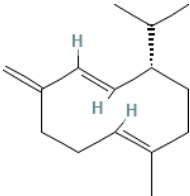
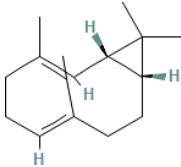
2. Préparation des inhibiteurs

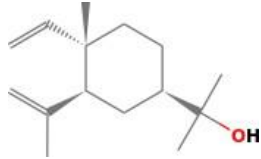
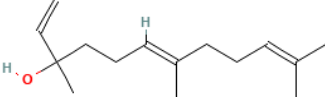
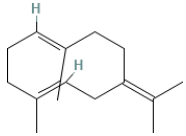
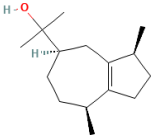
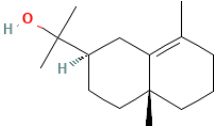
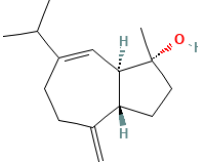
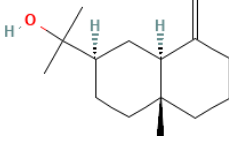
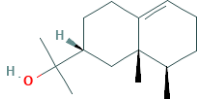
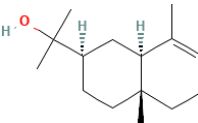
Nous avons obtenu la structure chimique de nos inhibiteurs à partir de la banque de données « PubChem ».

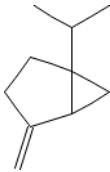
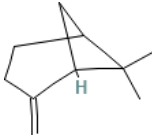
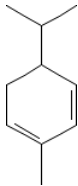
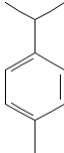
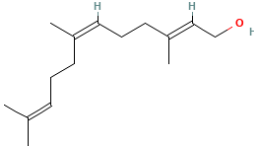
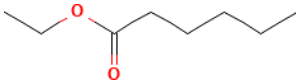
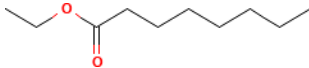
Le tableau 26 représente les inhibiteurs naturels et leurs structures chimiques.

Tableau 26: Structures chimiques des inhibiteurs naturels choisis des plantes de la famille des Rutacées (“DrugBank - PubChem Data Source,” n.d.).

Composés chimiques	Structures chimiques
Limonène	
2-Nonanone	
2-Décanone	
1-Décanol	
2-Undécanone	
2-Undécanol	
1-Dodécanol	
Myrcène	
Géranial	
Linalool	

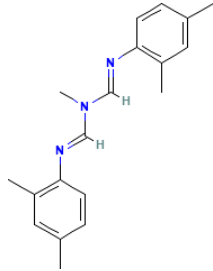
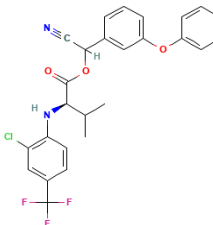
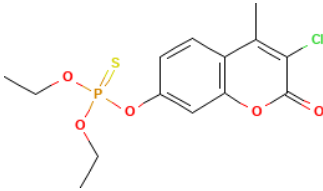
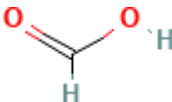
α-pinène	
δ-élémane	
β-élémane	
(E)-β-caryophyllène	
α-amorphène	
Germacrène D	
Bicyclo germacrène	

β-élémol	
(E)-nérolidol	
Germacrène B	
Guaiol	
γ-eudesmol	
Alismol	
β-eudesmol	
Valérianiol	
α-eudesmol	

Sabinène	
β-pinène	
α-phellandrène	
p-cimene	
(E,Z)-farnésol	
Ethyl hexanoate	
Ethyl octanoate	

Le tableau 27 représente les inhibiteurs synthétiques et leurs structures chimiques.

Tableau 27: Structures chimiques des inhibiteurs synthétiques (“**DrugBank - PubChem Data Source,**” n.d.).

Inhibiteurs synthétiques	Structures chimiques
Amitraz	
Tau – fluvalinate	
Coumaphos	
Acide formique	

3. Ressemblance médicamenteuse et propriétés analogues des inhibiteurs

La vérification et l'évaluation de la toxicité des molécules et leurs ressemblances avec les médicaments a été effectué via le serveur SwissADME.

Le serveur intègre aussi l'analyse de la règle de cinq de Lipinski.

Les propriétés physico-chimiques, la lipophilie, la solubilité dans l'eau, l'absorption et la règle de Lipinski ont été déterminés.

Selon les données du **tableau 28**, tous les ligands présentaient un poids moléculaire, un nombre d'atomes, un nombre de donneurs de liaisons H, un nombre d'accepteurs de liaisons H, un nombre de liaisons rotatives, une lipophilie, une solubilité dans l'eau, une pharmacocinétique, une similarité médicamenteuse et une chimie médicinale appropriées. Les ligands étaient conformes à l'analyse ADME.

Tableau 28: Test de toxicité pour les inhibiteurs naturels avec le serveur SwissADME
 (“<http://www.swissadme.ch>,” n.d.).

Molécules	Poids moléculaire	Nombre d'atomes	Nombre de liaisons	Nombre de liaisons hydrogène	Nombres de liaisons	Lipophilie	Solubilité dans l'eau	Absorption	Lipinski	Chimie médicale
Limonène	136.23	10	0	0	1	2.72	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
2-Nonanone	142.24	10	1	0	6	2.56	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
2-Décanone	156.27	11	1	0	7	2.79	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
1-Décanol	158.28	11	1	1	8	2.99	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte

										BRENK: 0 alerte
2- Undécanone	170.29	12	1	0	8	3.01	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
2-Undécanol	172.31	12	1	1	8	3.25	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
1-Dodécanol	186.33	13	1	1	10	3.37	Modéré - ment soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
Myrcène	136.23	10	0	0	4	2.89	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 2 alertes
Géranial	152.23	11	1	0	4	2.47	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 3 alertes
Linalool	154.25	11	1	1	4	2.70	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
α-pinène	136.23	10	0	0	0	2.63	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte

										BRENK: 1 alerte
δ-élémane	204.35	15	0	0	2	3.40	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
β-élémane	204.35	15	0	0	3	3.37	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
(E)-β-caryophyllène	204.35	15	0	0	0	3.29	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
α-amorphène	204.35	15	0	0	1	3.38	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Germacrène D	204.35	15	0	0	1	3.32	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Bicyclo germacrène	204.35	15	0	0	0	3.34	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
β-élémol	222.37	16	1	1	3	3.20	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte

										BRENK: 1 alerte
(E)-nérolidol	222.37	16	1	1	7	3.64	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Germacrène B	204.35	15	0	0	0	3.27	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Guaiol	222.37	16	1	1	1	3.29	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
γ-eudesmol	222.37	16	1	1	1	3.15	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Alismol	220.35	16	1	1	1	3.06	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
β-eudesmol	222.37	16	1	1	1	3.06	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Valérianiol	222.37	16	1	1	1	3.12	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte

										BRENK: 1 alerte
α-eudesmol	222.37	16	1	1	1	3.18	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Sabinène	136.23	10	0	0	1	2.65	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
β-pinène	136.23	10	0	0	0	2.59	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
α- phellandrène	136.23	10	0	0	1	2.64	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
p-cimene	134.22	10	0	0	1	2.51	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 0 alerte
(E,Z)- farnesol	222.37	16	1	1	7	3.71	Soluble	Faible	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK: 1 alerte
Ethyl hexanoate	144.21	10	2	0	6	2.33	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte

										BRENK: 0 alerte
Ethyl	172.26	12	2	0	8	2.78	Soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte
Octanoate										BRENK: 0 alerte

Tableau 29: Test de toxicité pour les inhibiteurs synthétiques avec le serveur SwissADME
(“<http://www.swissadme.ch>,” n.d.).

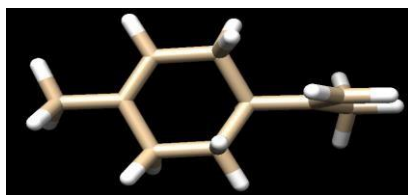
Molécules	Poids moléculaire (g/mol)	Nombre d'atomes	Nombre de liaisons hydrogène accepteurs	Nombre de liaisons hydrogène Donneurs	Nombres de liaisons rotatives	Lipophilie (ilOGP)	Solubilité dans l'eau	Absorption	Lipinski	Chimie médicale
Amitraz	293.41	22	2	0	4	3.38	Modéré – ment soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK : 2 Alertes
Tau – fluvalinate	502.91	35	7	1	10	3.84	Faiblement soluble	Faible	Non	PAINS : 0 alerte BRENK : 0 alerte
Couma- phos	362.77	22	5	0	6	3.11	Modéré - ment soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK : 2 Alertes

Acide formique	46.03	3	2	1	0	0.27	Très soluble	Elevé	Oui	PAINS : 0 alerte BRENK : 1 alerte
-----------------------	-------	---	---	---	---	------	--------------	-------	-----	---

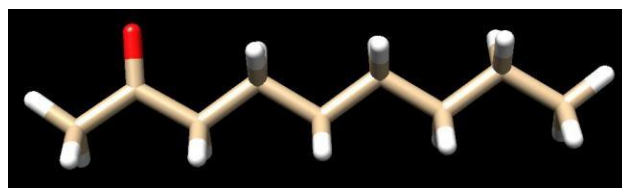
4. Optimisation de l'énergie

Nous avons utilisé le logiciel Chimera, version 1.17.2 pour la minimisation de l'énergie des ligands naturels et synthétiques dans le but d'avoir des structures stables. Nous avons utilisé la méthode de la mécanique moléculaire dont le champ de force Amber.

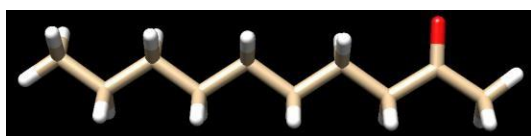
Les figures ci-dessous représentent les ligands optimisés.



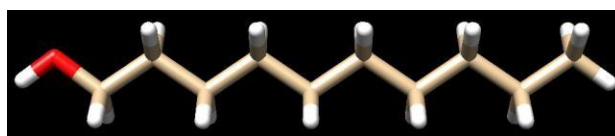
Limonène



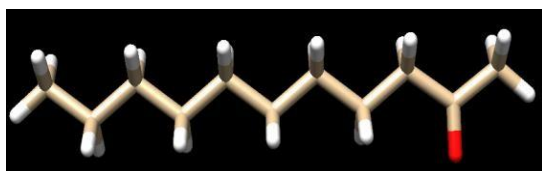
2 – Nonanone



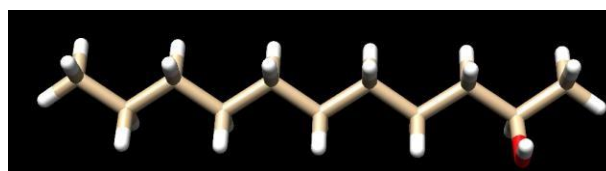
2- Décanone



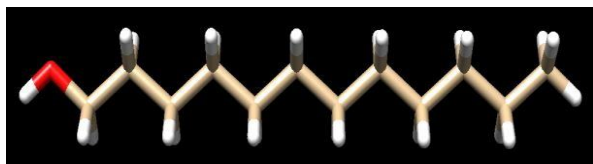
1- Décanol



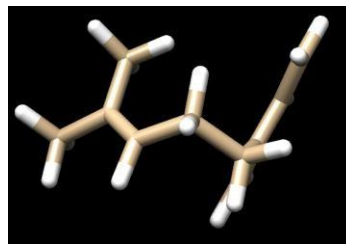
2- Undécanone



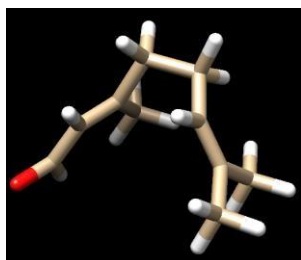
2- Undécanol



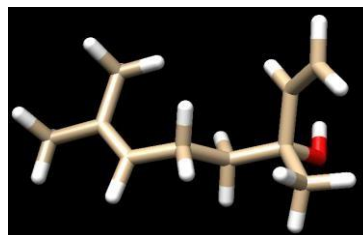
1-Dodécanol



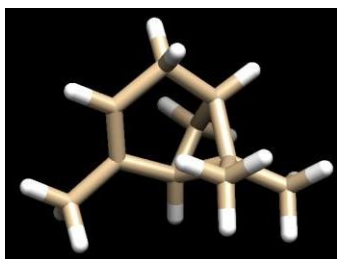
Myrcène



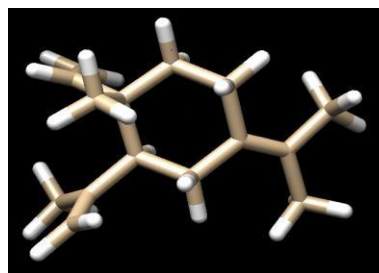
Géraniol



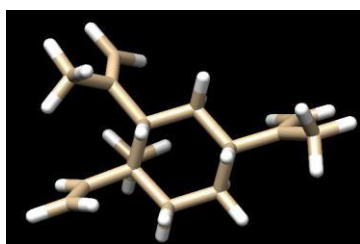
Linalool



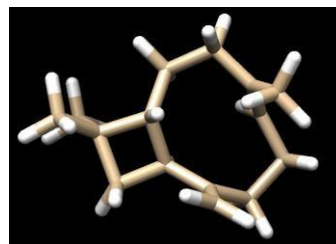
α-pinène



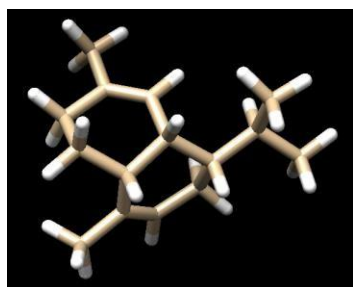
δ-élémane



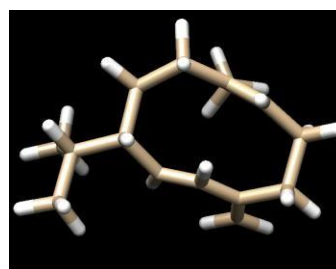
β-élémane



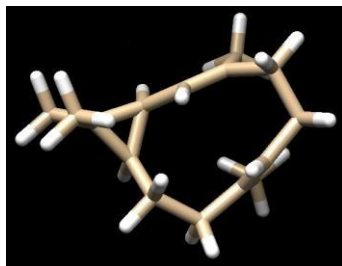
(E)-β-caryophyllène



α-amorphène



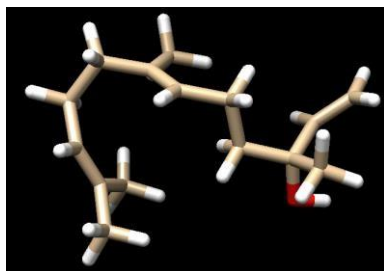
Germacrène D



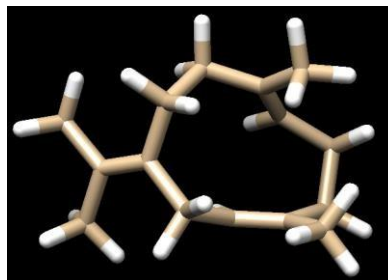
Bicyclo germacrène



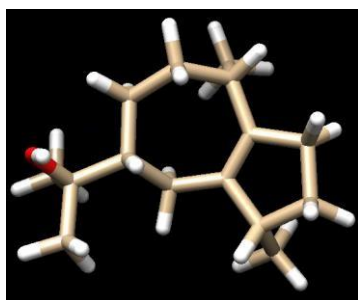
β-élémol



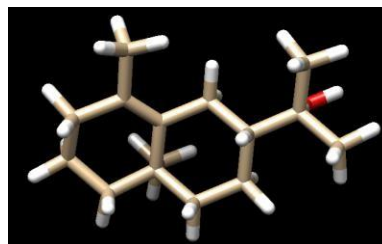
(E)-nérolidol



Germacrène B



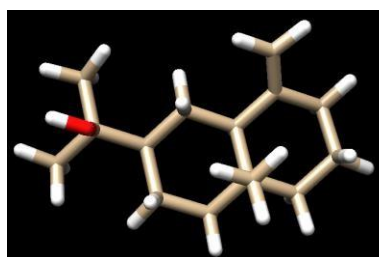
Guaiol



γ-eudesmol



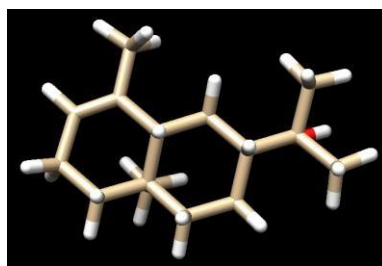
Alismol



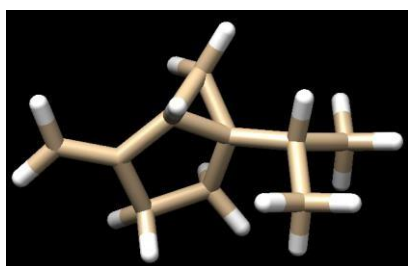
β-eudesmol



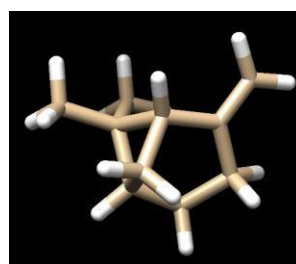
Valerianol



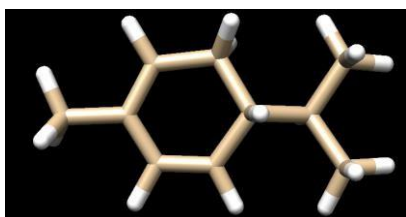
α-eudesmol



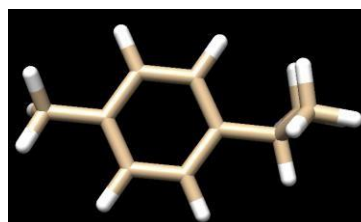
Sabinène



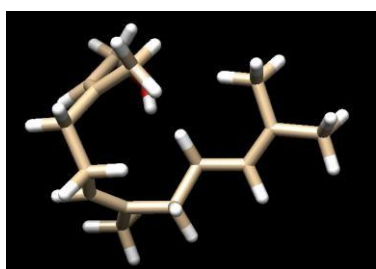
β-pinène



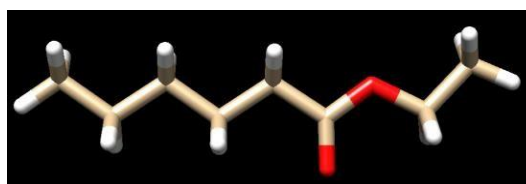
α-phellandrène



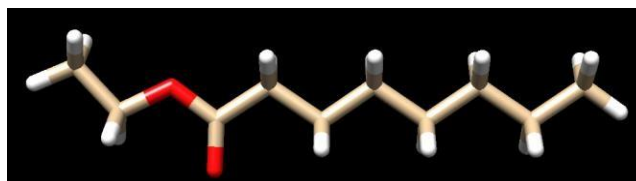
p-cimene



(E,Z)-farnesol

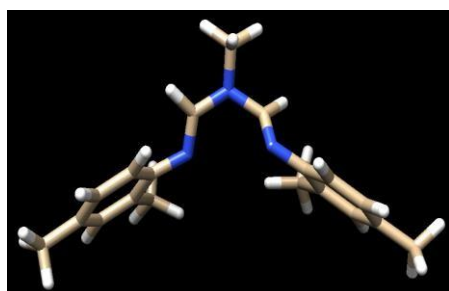


Ethyl hexanoate



Ethyl octanoate

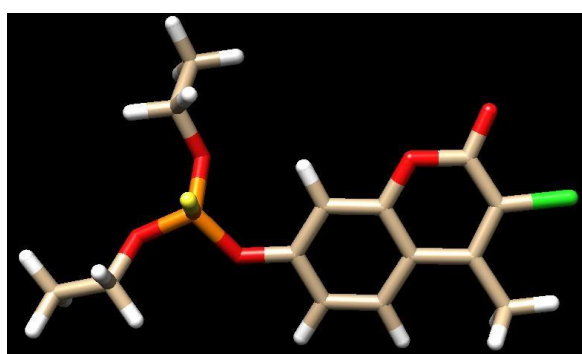
Figure 84: Structures optimisées des ligands naturels.



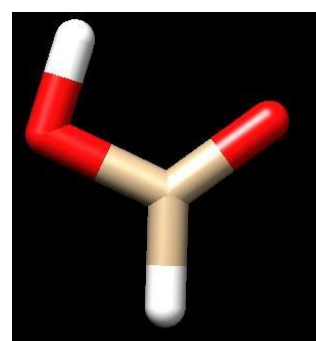
Amitraz



Tau - fluvalinate

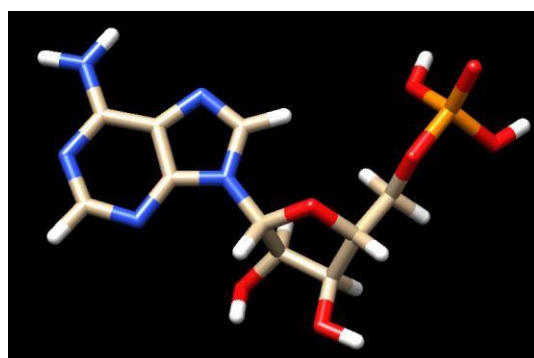


Coumaphos



Acide formique

Figure 85: Structures optimisées des ligands synthétiques.



Adénosine monophosphate

Figure 86: Structure optimisée de ligand de référence.

5. Docking moléculaire

A l'aide de logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 nous avons préparé la structure 3D de la protéine D-Glucose 1-phosphate en ajoutant les molécules d'hydrogènes.

Ensuite, nous avons utilisé le logiciel Autodock vina, version 1.5.7. Nous avons utilisé le programme autogrid pour générer des cartes de grille d'affinité de 50 × 60 × 66 points XYZ Å avec un espacement de 1,000 Å. Puis, le programme autodock pour lancer le docking protéine D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs (naturels et synthétiques) et ligand de référence.

Le score est une mesure mathématique qui mesure le degré d'affinité de liaison prédite entre la protéine et l'inhibiteur. Certains systèmes de notation permettent de classer et de noter les ligands amarrés afin de trouver le meilleur ajustement pour ces ligands (**Nain et al., 2020**).

Les résultats du score du docking moléculaire sont présentés dans les tableaux **30, 31 et 32**.

Les molécules sont classées à partir du meilleur inhibiteur c.à.d. celui qui a donné le niveau énergétique le plus bas.

Tableau 30: Score du docking moléculaire des complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels.

Inhibiteurs naturels	Score (Kcal/mol)
Alismol	-7.1
Germacrène D	-7.1
Guaiol	-7.1
α -amorphène	-6.9
β -eudesmol	-6.9
Bicyclogermacrène	-6.8
Germacrène B	-6.8
Valerianol	-6.8
α -eudesmol	-6.7
β -élémente	-6.7
δ -élémente	-6.7
γ -eudesmol	-6.7
Transcaryophyllène	-6.6

β-élémol	-6.2
(E)-nérolidol	-5.9
Sabinène	-5.7
Limonène	-5.6
p-cimene	-5.6
α-phellandrène	-5.5
α-pinène	-5.4
(E,Z)-farnesol	-5.4
Linalool	-5.4
β-pinène	-5.3
Géranial	-5.3
Myrcène	-5.1
2-Décanone	-4.7
2-Undécanol	-4.7
1-Décanol	-4.6
2-Nonanone	-4.6
1-Dodécanol	-4.5
2-Undécanone	-4.5
Ethylhexanoate	-4.5
Ethyl octanoate	-4.5

Tableau 31: Score du docking moléculaire des complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs synthétiques.

Inhibiteurs synthétiques	Score (Kcal/mol)
Tau fluvalinate	-8.8
Amitraz	-8.3
Coumaphos	-7.4
Acide formique	-3.2

Tableau 32: Résultats du score du docking moléculaire protéine / ligand de référence.

Ligand de référence	Score (Kcal/mol)
Adénosine monophosphate	-7.2

Après le docking D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels, les résultats montrent que les molécules : Alismol, Germacrène D, Guaiol ont donné la meilleure valeur d'énergie de liaison qui est à -7.1 Kcal/mol.

Le docking D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs synthétiques montre que le Tau-fluvalinate a donné la meilleure valeur d'énergie de liaison qui est à -8.8 Kcal/mol.

Le ligand de référence, Adénosine monophosphate a donné une valeur d'énergie de liaison qui est à -7.2 Kcal/mol.

Alismol, Germacrène D, Guaiol ont donné des résultats pratiquement similaires à celle d'Adénosine monophosphate ; le ligand de référence.

α -amorphène et β -eudesmol ont donné un très bon résultat qui est de -6.9 Kcal/mol par rapport au ligand de référence.

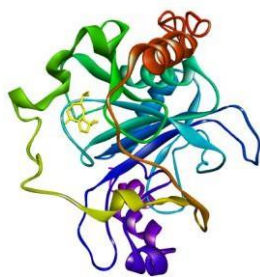
Bicyclogermacrène, Germacrène B, Valerianol, α -eudesmol, β -élémente, δ -élémente, γ -eudesmol, Transcaryophyllène, β -élémol ont donné un degré d'affinité de liaison avec le D-Glucose 1-phosphate proche de celui d'Adénosine monophosphate.

Les molécules synthétiques ont donné un score proche mais meilleur que le ligand de référence, mis à part l'acide formique qui a donné une énergie de liaison de -3.2 Kcal/mol.

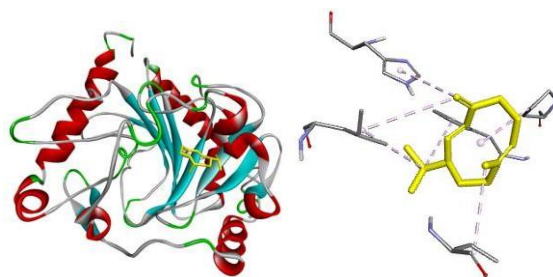
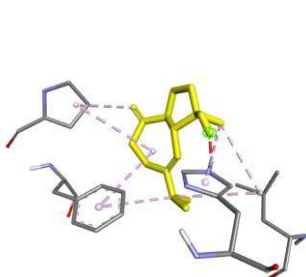
6. Complexes formés

Autodock est utilisé pour déterminer l'énergie totale (intramoléculaire et intermoléculaire) d'interaction, ainsi que le nombre et le type d'interaction entre le complexe protéine / inhibiteur (García-Godoy et al., 2015).

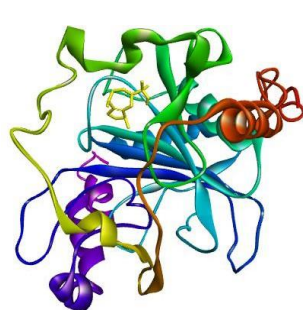
Ci-dessous sont représentés les complexes formés après le docking moléculaire :



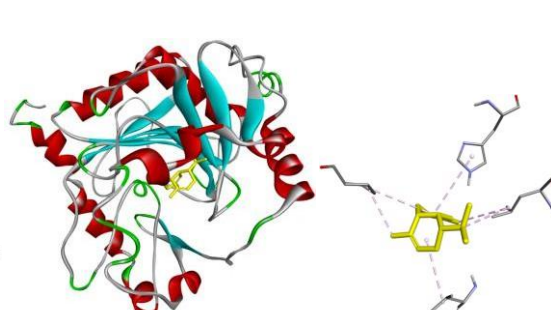
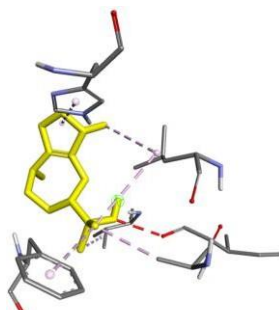
D-Glucose 1-phosphate / Alismol



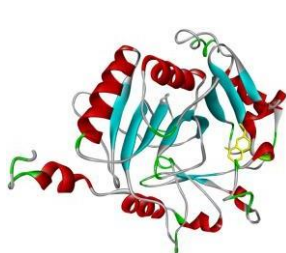
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



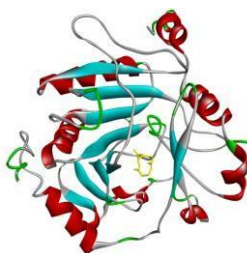
D-Glucose 1-phosphate / Guaiol



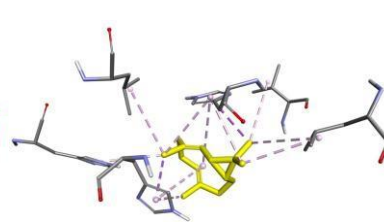
D-Glucose 1-phosphate / α -amorphène

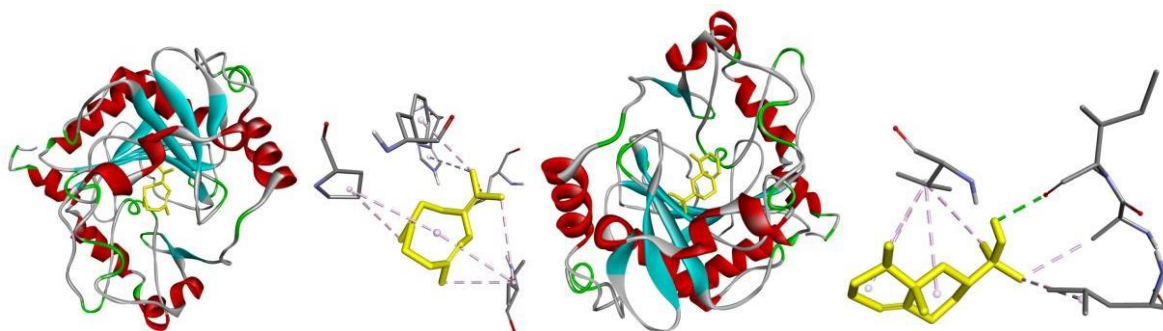


D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol



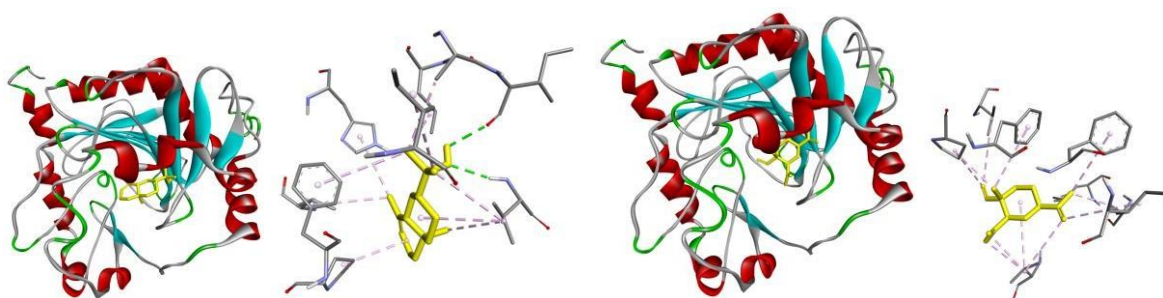
D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène





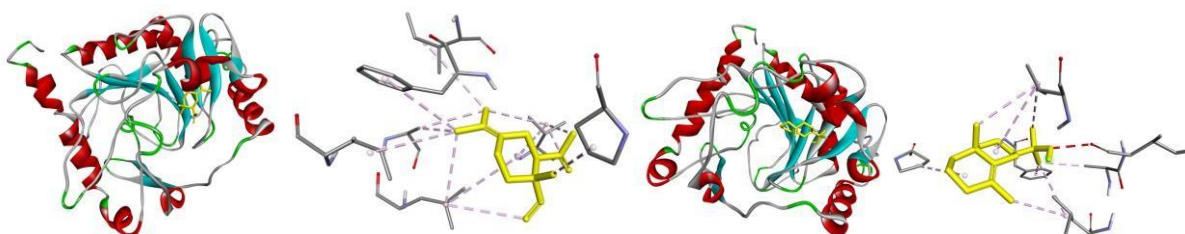
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène B

D-Glucose 1-phosphate / Valerianol



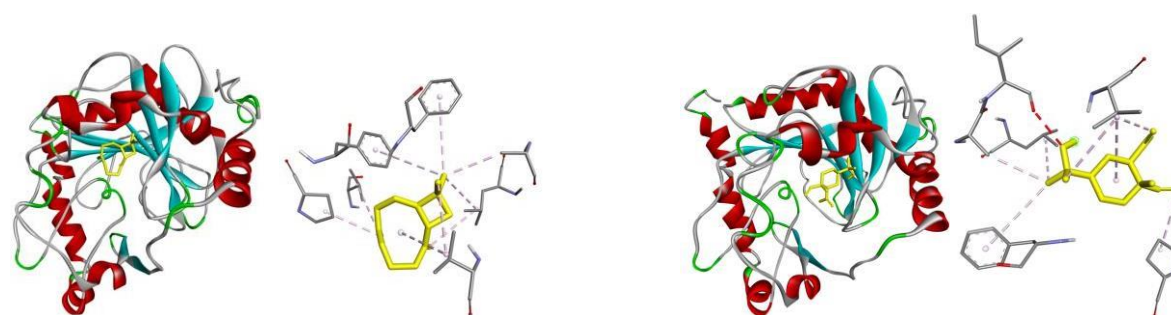
D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol

D-Glucose 1-phosphate / β -élémane

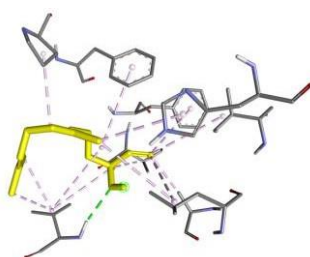
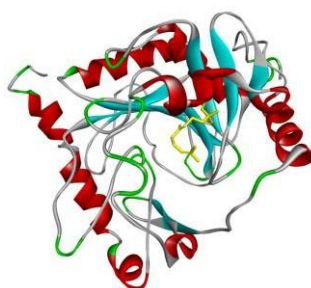


D-Glucose 1-phosphate / δ -élémane

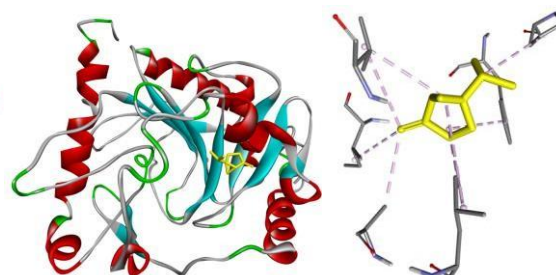
D-Glucose 1-phosphate / γ -eudesmol



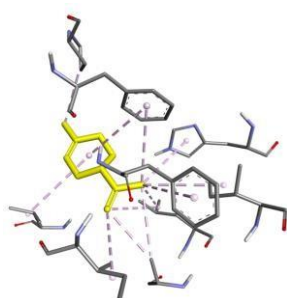
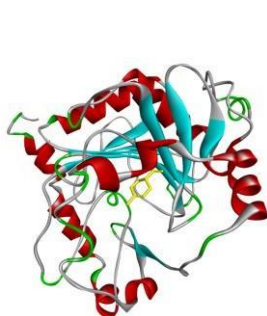
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol



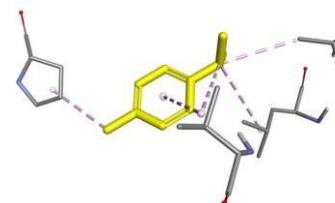
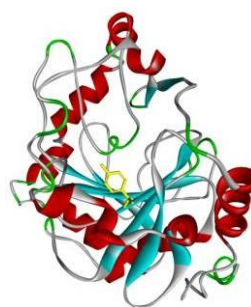
D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



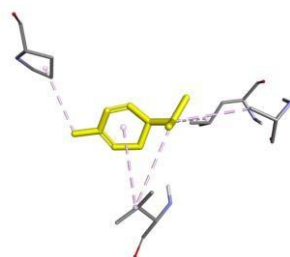
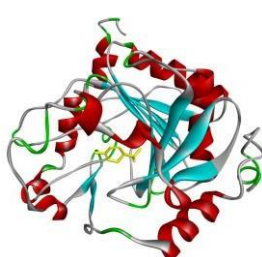
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène



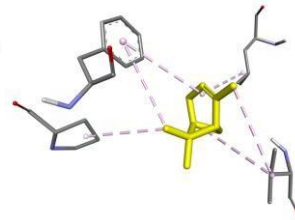
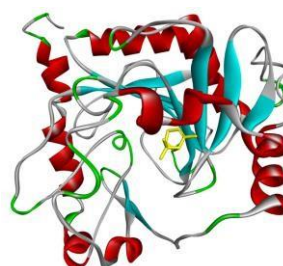
D-Glucose 1-phosphate / Limonène



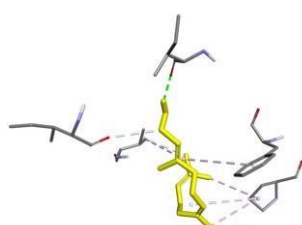
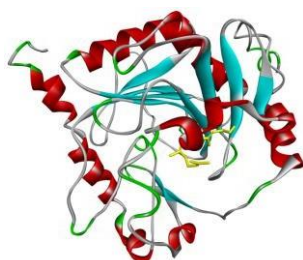
D-Glucose 1-phosphate / p-cimene



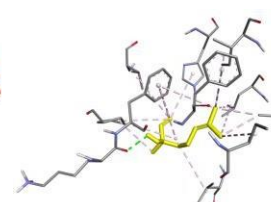
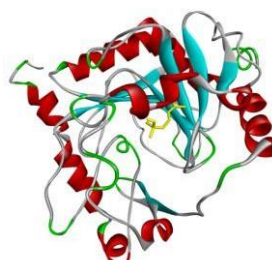
D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrène



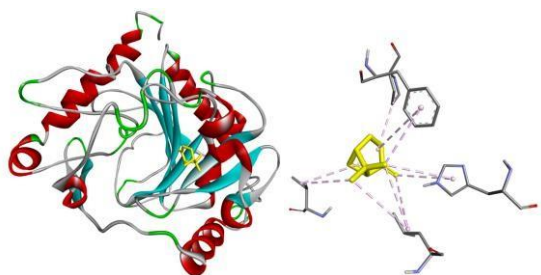
D-Glucose 1-phosphate / α -pinène



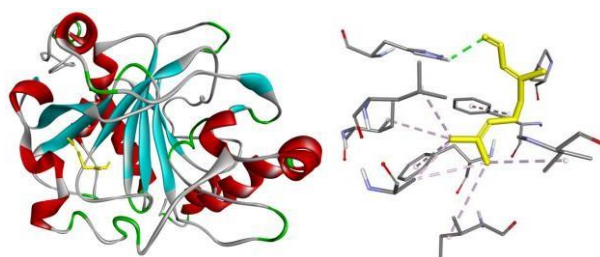
D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)-farnesol



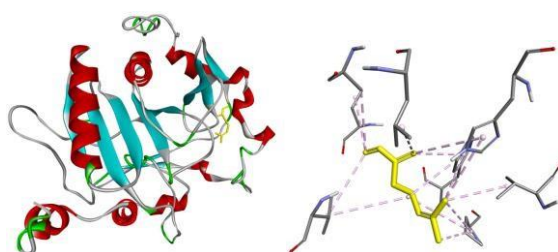
D-Glucose 1-phosphate / Linalool



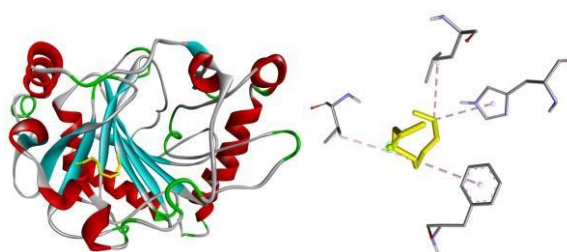
D-Glucose 1-phosphate / β -pinène



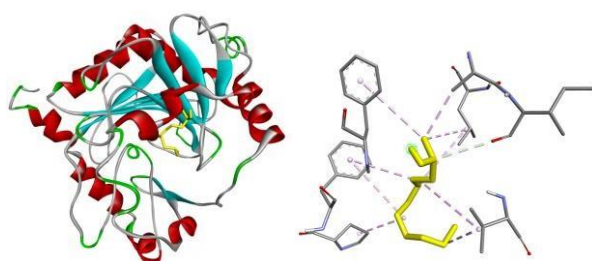
D-Glucose 1-phosphate / Géranial



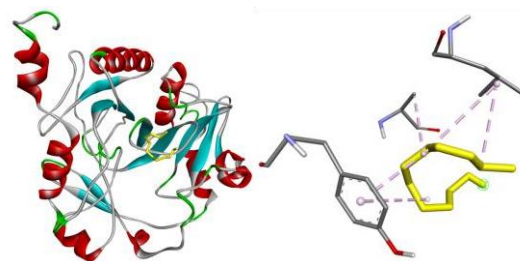
D-Glucose 1-phosphate / Myrcène



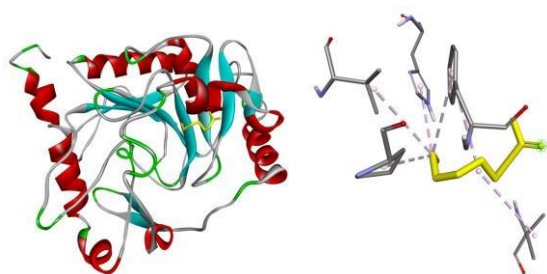
D-Glucose 1-phosphate / 2-Décanone



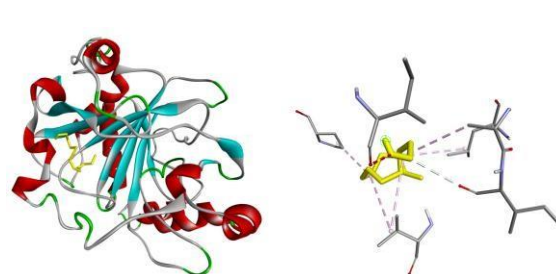
D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanol



D-Glucose 1-phosphate / 1-Décanol



D-Glucose 1-phosphate / 2-Nonanone



D-Glucose 1-phosphate / 1-Dodécanol

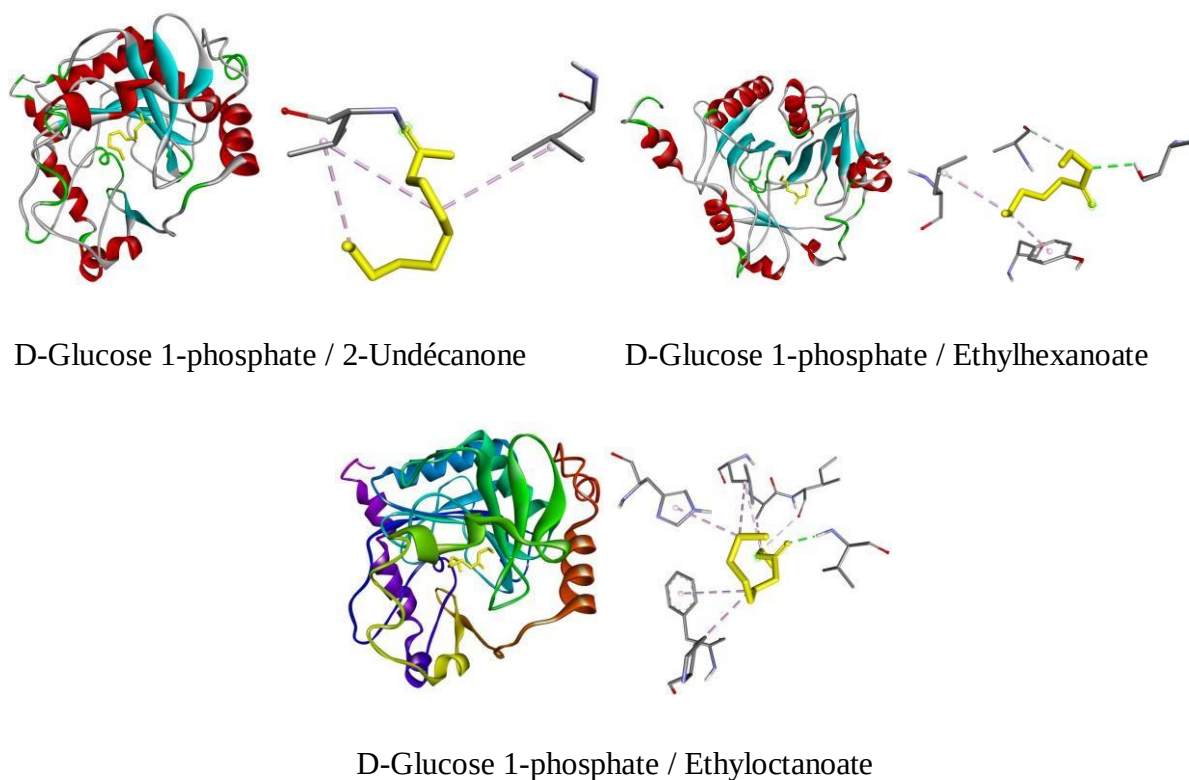


Figure 87: Complexes protéine / inhibiteurs naturels formés après le docking moléculaire.

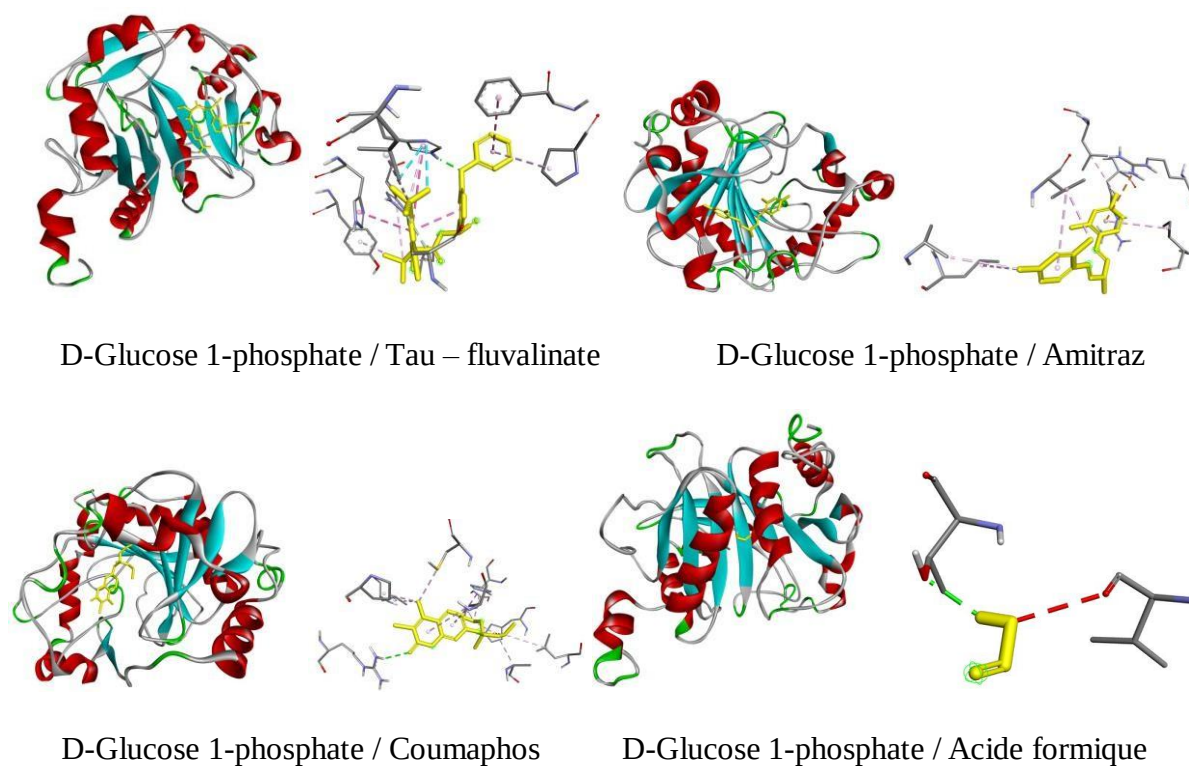
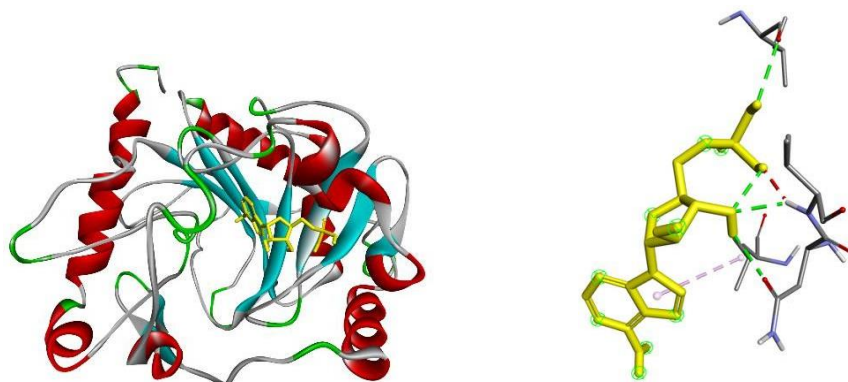


Figure 88: Complexes protéine / inhibiteurs synthétiques formés après le docking moléculaire.

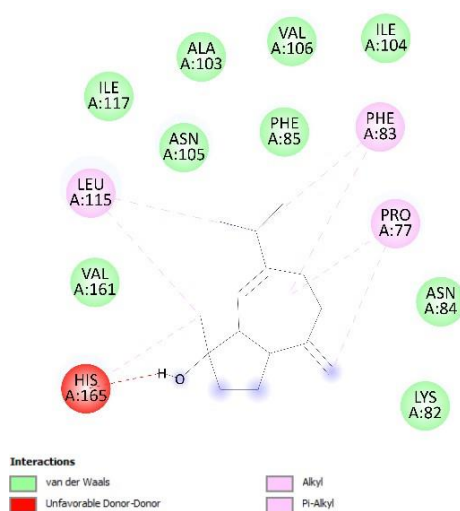


D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate

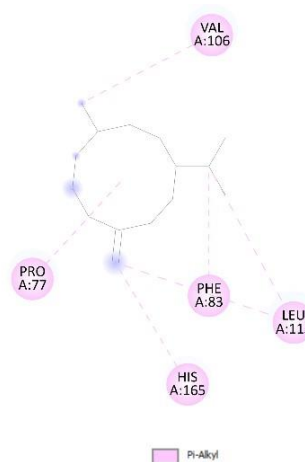
Figure 89: Complexe protéine / ligand de référence formé après le docking moléculaire.

7. Interactions chimiques 2D

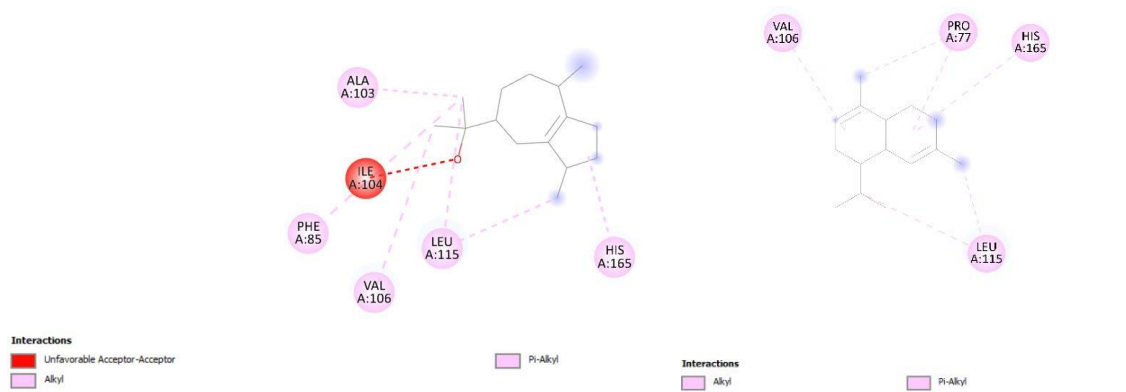
Nous avons utilisé le logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 pour la visualisation des interactions chimiques 2D (**figure 90, 91 et 92**) :



D-Glucose 1-phosphate / Alismol

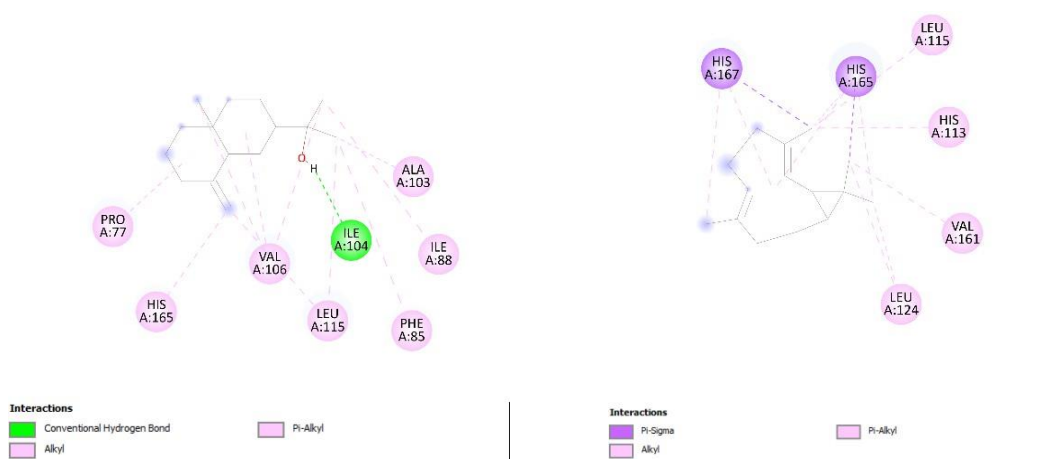


D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



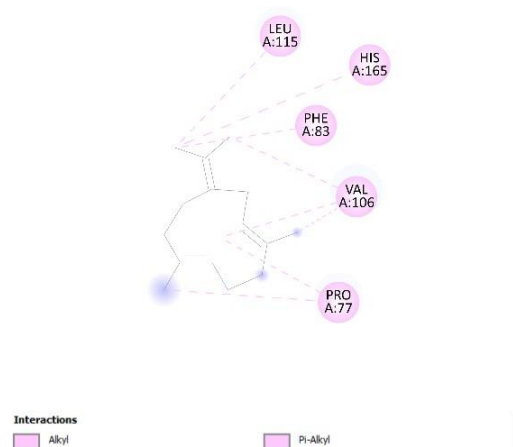
D-Glucose 1-phosphate / Guaïol

D-Glucose 1-phosphate / α -amorphène

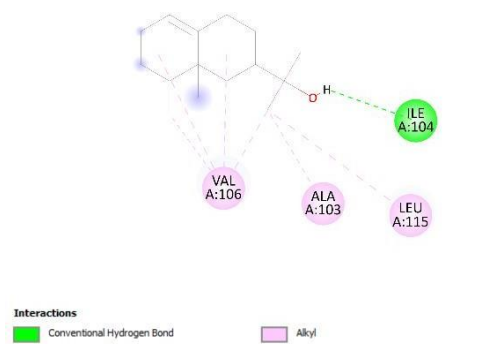


D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol

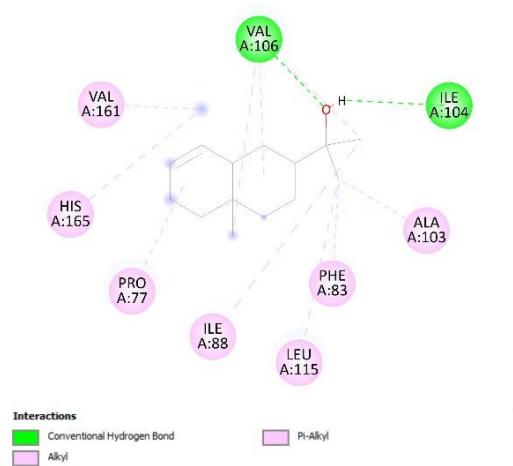
D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène



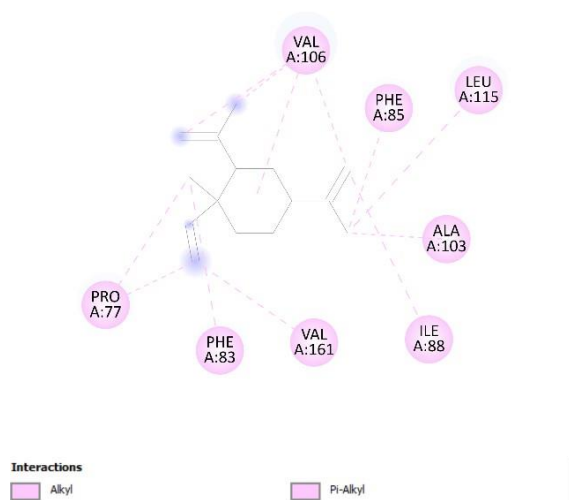
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène B



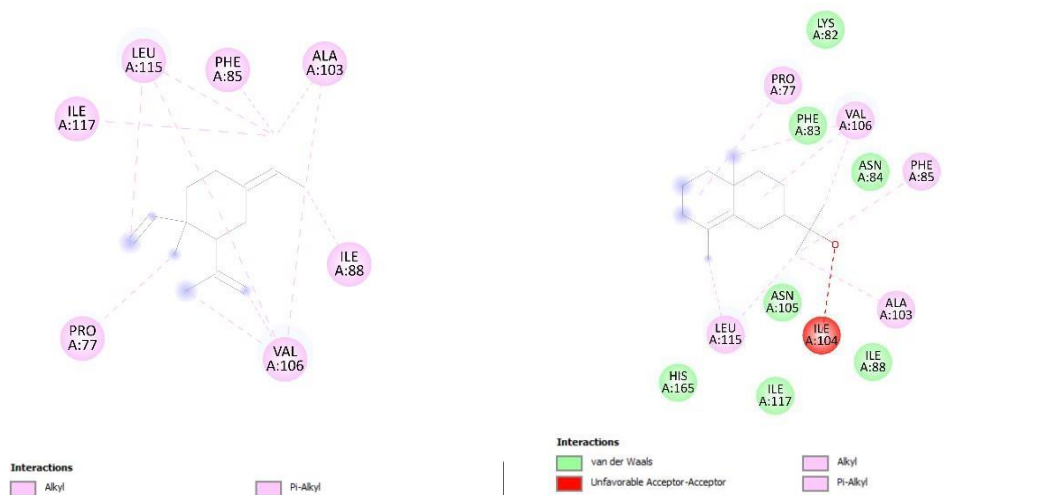
D-Glucose 1-phosphate / Valerianol



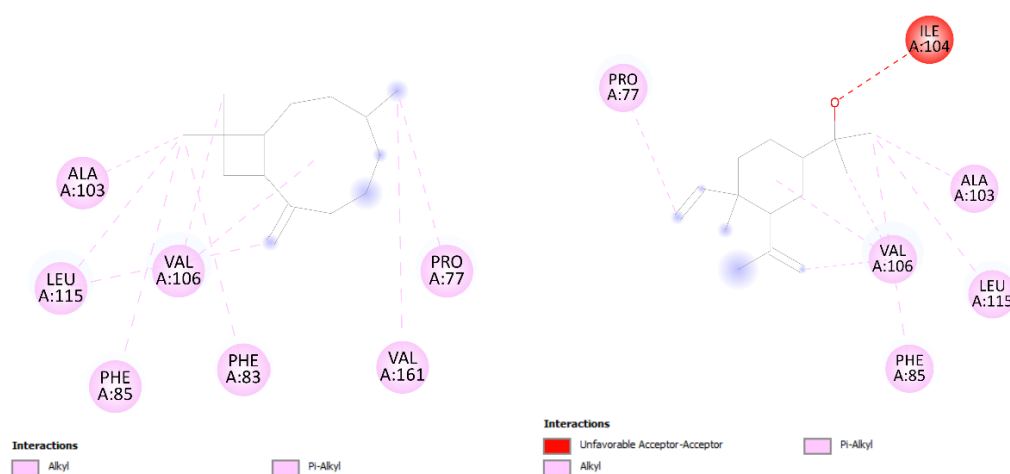
D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol



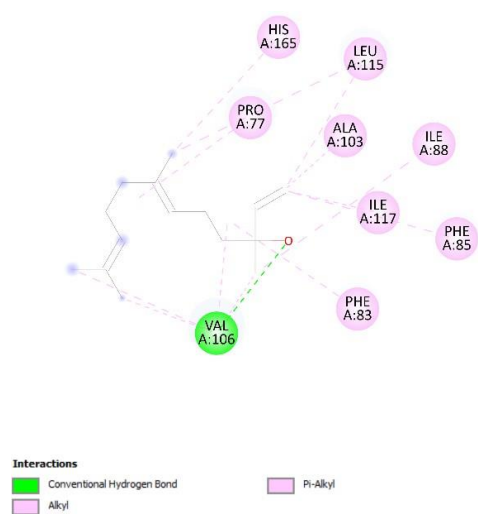
D-Glucose 1-phosphate / β -élémane



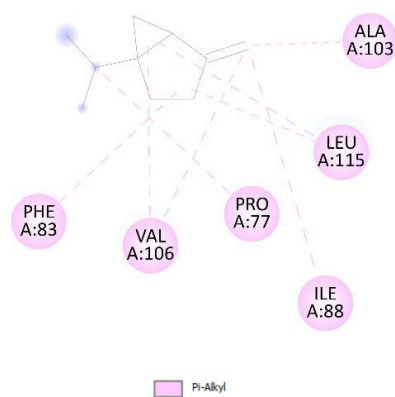
D-Glucose 1-phosphate / δ -élémane D-Glucose 1-phosphate / γ -eudesmol



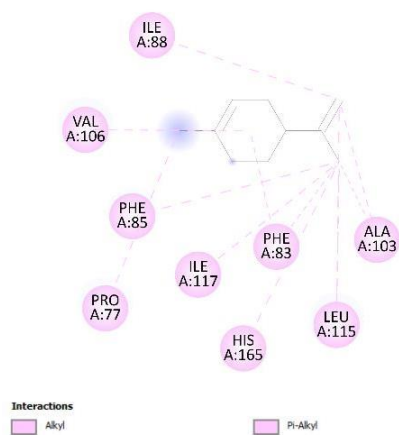
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol



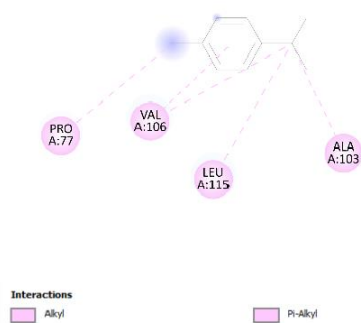
D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



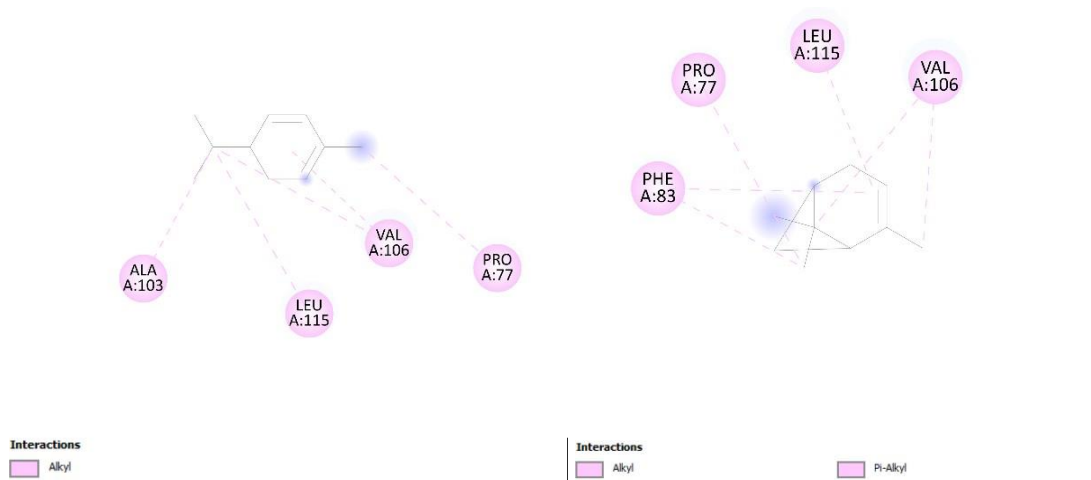
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène



D-Glucose 1-phosphate / Limonène

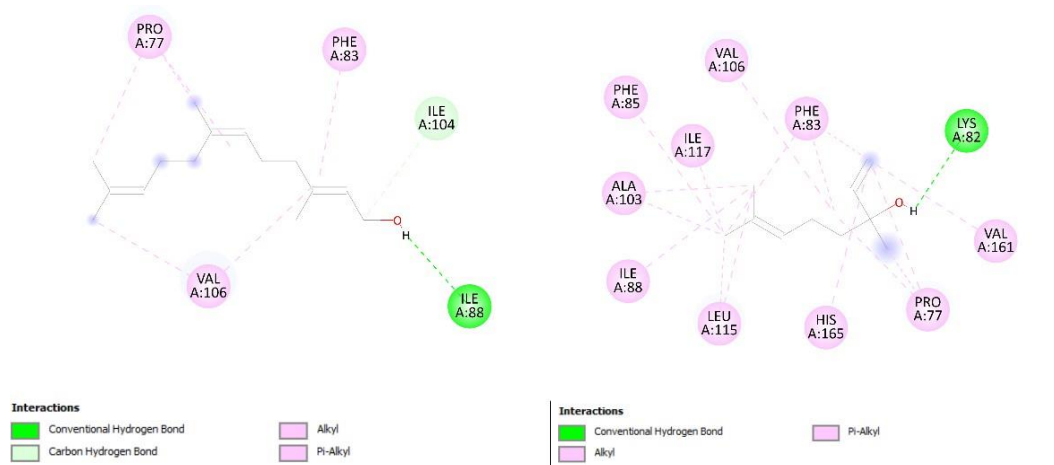


D-Glucose 1-phosphate / p-cimene



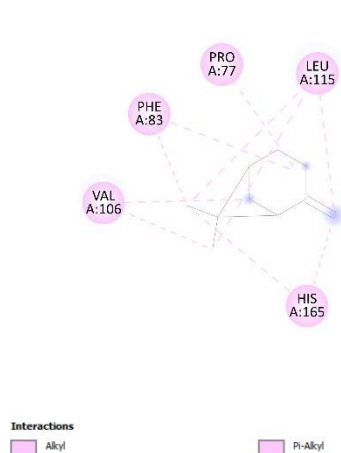
D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrène

D-Glucose 1-phosphate / α -pinène

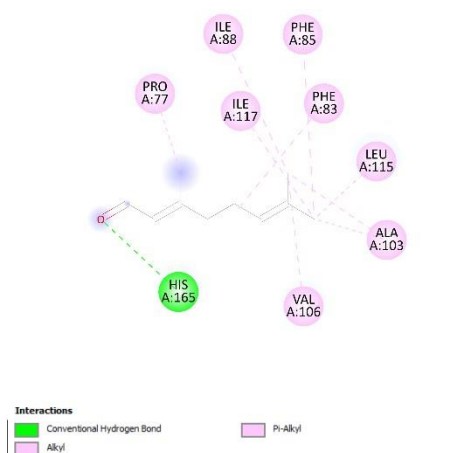


D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)-farnesol

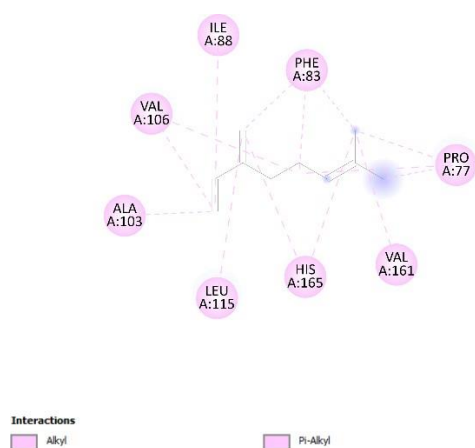
D-Glucose 1-phosphate / Linalool



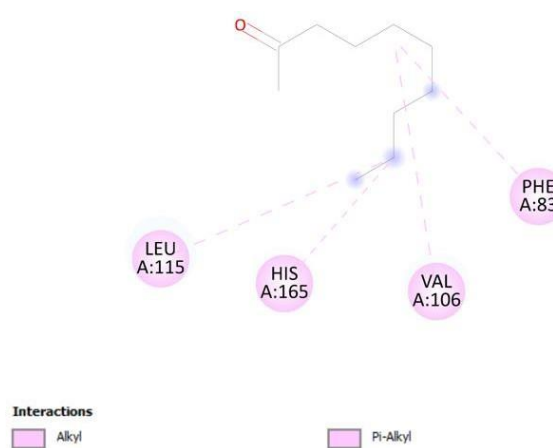
D-Glucose 1-phosphate / β -pinène



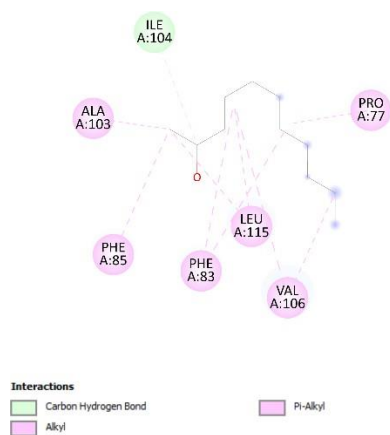
D-Glucose 1-phosphate / Géraniol



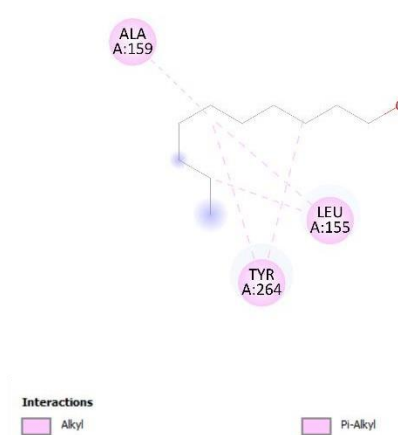
D-Glucose 1-phosphate / Myrcène



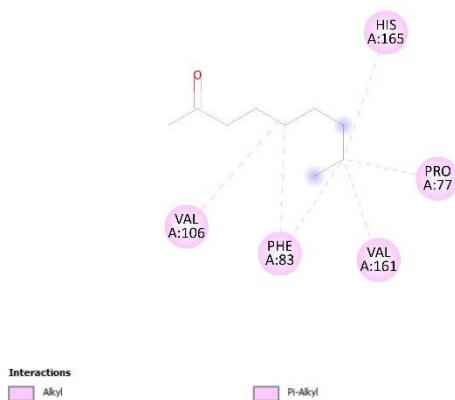
D-Glucose 1-phosphate / 2-Décanone



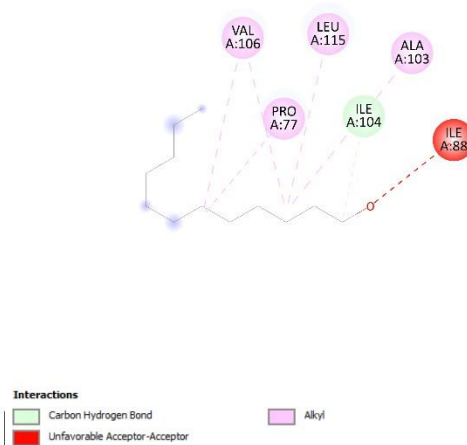
D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanol



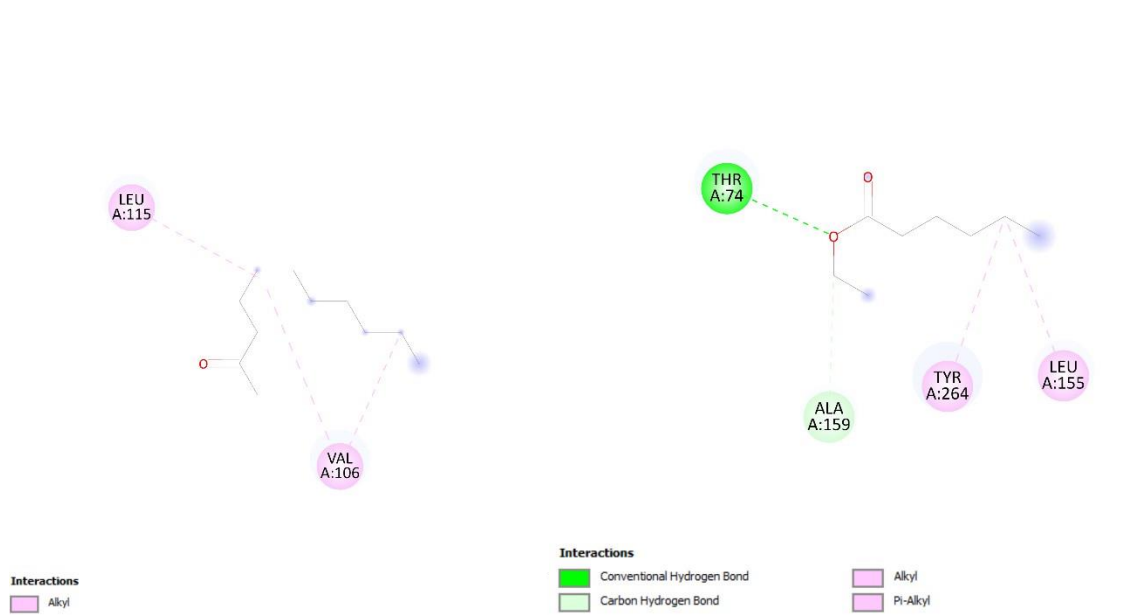
D-Glucose 1-phosphate / 1-Décanol



D-Glucose 1-phosphate / 2-Nonanone

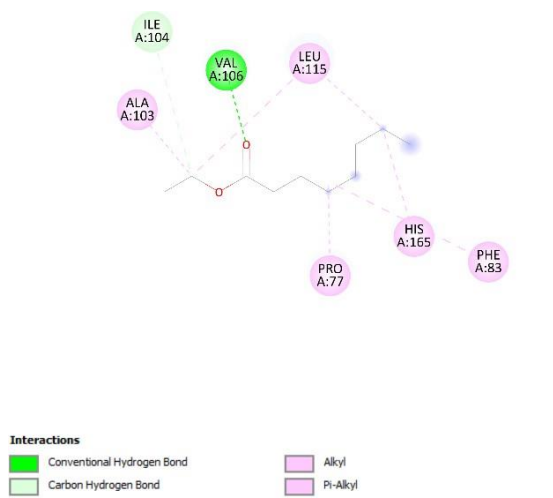


D-Glucose 1-phosphate / 1-Dodécanol



D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécane

D-Glucose 1-phosphate / Ethylhexanoate



D-Glucose 1-phosphate / Ethyloctanoate

Figure 90: Interactions chimiques 2D protéine / inhibiteurs naturels.

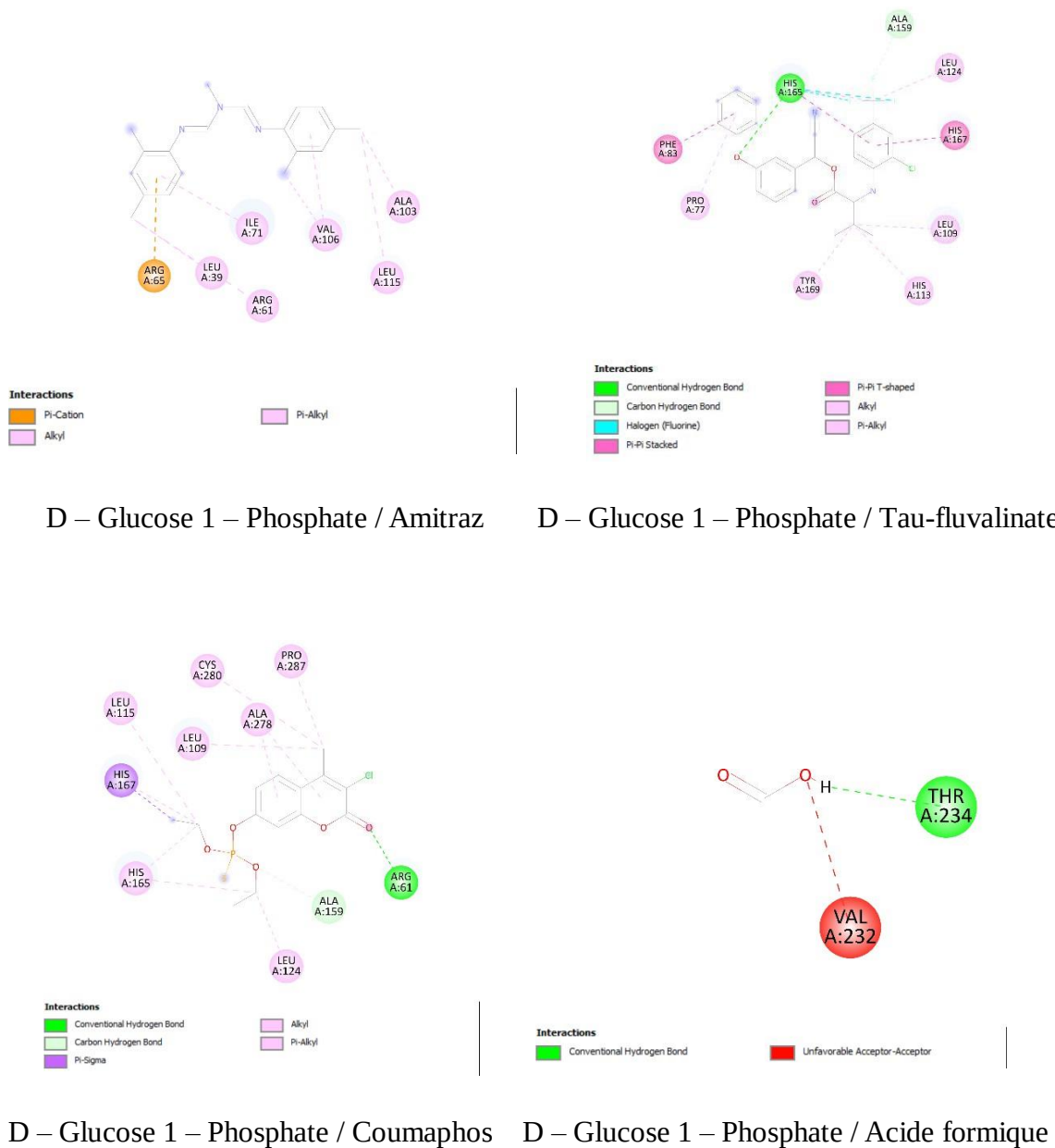
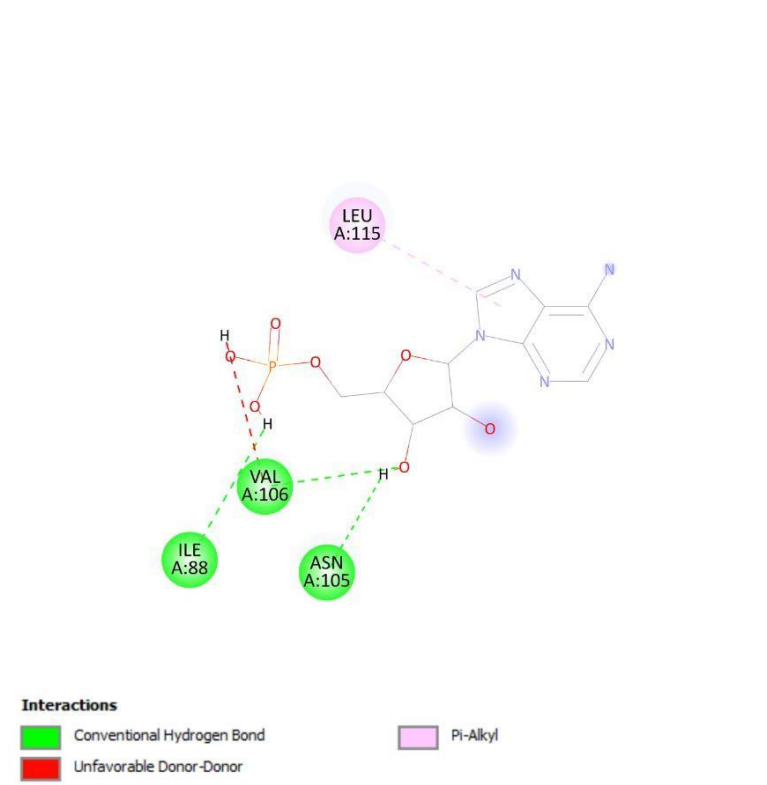


Figure 91: Interactions chimiques 2D protéine / inhibiteurs synthétiques.



D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate

Figure 92: Interactions chimiques 2D protéine / ligand de référence.

Les interactions chimiques 2D entre la protéine D-Glucose 1-phosphate et les inhibiteurs sont représentés dans les figures ci-dessus.

Les résultats montrent :

- ✓ 4 liaisons hydrogènes avec le ligand de référence dans les résidus VAL 106, ASN 105, ILE 88.
- ✓ 2 liaisons hydrogènes avec :
 - α -eudesmol dans les résidus VAL 106 et ILE 104.
 - (E,Z)-farnesol dans les résidus ILE 104 et ILE 88
 - Ethylhexanoate dans les résidus THR 74 et ALA159
 - Ethyloctanoate dans les résidus ILE 104 et VAL 106
 - Tau-fluvalinate dans les résidus HIS 165 et ALA 159
 - Coumaphos dans les résidus ARG 61 et ALA 159

✓ 1 liaison hydrogène avec :

- β -eudesmol dans le résidu ILE 104
- Valerianol dans le résidu ILE 104
- (E)-nérolidol dans le résidu VAL 106
- Linalool dans le résidu LYS 82
- Géraniol dans le résidu HIS 165
- 2-Undécanol dans le résidu ILE 104
- 1-Dodécanol dans le résidu ILE 104
- Acide formique dans le résidu THR 234

Dans les figures sont illustrées les autres interactions chimiques : Alkyl, Pi-alkyl, Van der waals, liaison carbone, Pi-sigma, Pi-cation, Halogen, Pi-Pi Stacked, Pi-Pi T-Shaped.

Les liaisons hydrogènes sont la clé de la reconnaissance moléculaire puisqu'elles sont dix fois plus fortes que les autres liaisons. Elles ont également une influence sur toutes les autres formes d'interaction intermoléculaire (**Legon, 2020**).

α -eudesmol, (E,Z)-farnesol, Ethylhexanoate, Ethyloctanoate, β -eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol, Linalool, Géraniol, 2-Undécanol, 1-Dodécanol sont les ligands qui ont formés des liaisons hydrogènes fortes avec la protéine D-Glucose 1-phosphate parmi les autres molécules naturelles ; c'est ce qui rend ces complexes plus stables.

Tau-fluvalinate, Coumaphos, Acide formique ont ainsi formé des liaisons hydrogènes avec la protéine D-Glucose 1-phosphate à l'exception de l'Amitraz.

Tableau 33: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour chaque inhibiteur naturel.

Molécules naturelles	Score (Kcal/mol)	Liaison conventionnelle	Liaison carbone	Liaison hydrogène	Distance	Hydrophobie	Distance
Alismol	-7.1	0	0	0	0	PRO77	5,10479
						PRO77	4,37692
						LEU115	4,30813
						LEU115	4,93202
						PHE83	5,02601
						PHE83	4,83777
						HIS165	5,40315
Germacrène D	-7.1	0	0	0	0	PRO77	5,09983
						LEU115	5,20998
						PHE83	4,44332
						VAL106	4,98091

						HIS165	4,9399
						LEU115	4,55147
Guaiol	-7.1	0	0	0	0	ALA103	3,54718
						LEU115	4,67415
						PHE85	4,56375
						VAL106	4,61339
						HIS165	5,33395
						LEU115	4,87747
α-amorphène	-6.9	0	0	0	0	PRO77	5,36465
						LEU115	4,57005
						VAL106	4,72722
						PRO77	4,09602
						HIS165	4,77114
						LEU115	5,38003

β-eudesmol	-6.9	0	0	1	2,20161	ILE104	2,20161
						PRO77	4,39714
						ALA103	3,75012
						VAL106	4,92387
						VAL106	4,68382
						LEU115	4,92039
						LEU115	4,61995
						ILE88	5,31846
						AL106	4,77528
						PHE85	5,3373
						HIS165	4,51482
	-6.8	0	0	0	0	HIS165	3,8988
						HIS167	3,80315
						LEU124	4,88061

Bicyclogermacrène						VAL161	4,72426
						LEU115	4,63183
						LEU124	4,45315
						HIS113	4,42292
						HIS165	5,35605
						HIS165	4,91983
						HIS165	4,33313
						HIS167	5,28789
						HIS167	4,5984
Germacrène B	-6.8	0	0	0	0	PRO77	5,40137
						VAL106	5,10255
						VAL106	4,10717
						PRO77	4,76858
						LEU115	4,68485

						VAL106	4,90993
						PHE83	4,4335
						HIS165	4,96178
Valérianol	-6.8	0	0	1	2,57374	ILE104	2,57374
						ALA103	3,89769
						VAL106	5,04664
						VAL106	5,35055
						VAL106	4,06607
						VAL106	4,42316
						LEU115	4,49457
	-6.7	0	0	2	2,6391	VAL106	2,6391
					2,57434	ILE104	2,57434
						PRO77	4,24067
						ALA103	4,14898

α -eudesmol						VAL106	4,78275
						VAL161	4,75904
						VAL106	4,53389
						ILE88	5,41935
						VAL106	4,75546
						LEU115	4,58678
						PHE83	5,33176
						HIS165	4,36626
	-6.7	0	0	0	0	ALA103	3,26897
						VAL106	5,19756
						PRO77	3,9417
						VAL106	3,95754
						VAL106	3,91116
						LEU115	4,69832

β -élémente						ILE88	4,69832
						VAL106	4,78563
						PRO77	4,47576
						VAL161	5,42837
						PHE83	5,03871
						PHE85	5,04592
δ -élémente	-6.7	0	0	0	0	ALA103	3,49323
						ALA103	4,39847
						VAL106	5,43897
						LEU115	5,36177
						LEU115	4,4354
						LEU115	4,52513
						LEU117	5,19039
						ILE88	5,41897

						VAL106	4,78931
						VAL106	3,94011
						VAL106	3,87938
						LEU115	4,88719
						PHE85	5,03674
γ -eudesmol	-6.7	0	0	0	0	PRO77	5,47355
						ALA103	3,66556
						VAL106	5,08272
						LEU115	4,47316
						VAL106	4,38018
						VAL106	4,65759
						LEU115	4,59897
						PHE85	5,28825
	-6.6	0	0	0	0	ALA103	3,92686

Transcaryophyllène						VAL106	4,82563
						LEU115	4,5351
						PRO77	4,5351
						VAL161	5,35445
						LEU115	4,78933
						VAL106	4,61054
						PHE83	5,45452
						PHE85	5,43431
β-élémol	-6.2	0	0	0	0	ALA103	3,88638
						VAL106	4,9993
						LEU115	4,59045
						VAL106	4,50846
						VAL106	3,80449
						PRO77	4,29677

						PHE85	5,468
	-5.9	0	0	1	2,65269	VAL106	2,65269
						PRO77	4,18486
						ALA103	3,5277
						VAL106	5,38155
						LEU115	5,21529
						ILE88	5,23659
						VAL106	4,8796
						LEU115	4,31167
						LEU117	4,78328
						VAL106	4,09875
						VAL106	4,29581
						PHE83	5,14428
						PHE85	4,87188

(E)-nérolidol

						HIS165	4,64071
Sabinène	-5.7	0	0	0	0	ALA103	3,97781
						VAL106	4,60969
						LEU115	5,33591
						LEU115	4,68398
						ILE88	5,3428
						VAL106	5,16264
						PRO77	4,98532
						PHE83	5,09286
	-5.6	0	0	0	0	ALA103	3,78764
						ALA103	4,30217
						VAL106	5,42245
						PRO77	4,40242
						ILE88	5,4745

Limonène						LEU115	5,33802
						LEU115	4,17848
						ILE117	4,57507
						PHE83	5,43577
						PHE83	4,82105
						PHE85	5,05065
						HIS165	4,72781
p-cimene	-5.6	0	0	0	0	ALA103	4,22576
						PRO77	4,50172
						VAL106	5,23867
						LEU115	4,99071
						VAL106	4,84958
	-5.5	0	0	0	0	ALA103	4,34542
						VAL106	4,78149

α-phellandrène						PRO77	4,50458
						VAL106	5,1767
						LEU115	4,91838
α-pinène	-5.4	0	0	0	0	VAL106	4,71641
						PRO77	4,62222
						LEU115	4,93237
						VAL106	4,77814
						PHE83	5,20322
						PHE83	5,08636
(E,Z)-farnesol	-5.4	0	0	2	2,53868	ILE88	2,53868
					3,63745	ILE104	3,63745
						PRO77	5,17555
						VAL106	5,27804
						PRO77	4,25026

Linalool						VAL106	3,69741
						PRO77	4,32816
						PHE83	5,31527
	-5.4	0	0	1	2,49612	LYS82	2,49612
						PRO77	5,39932
						ALA103	3,71967
						ALA103	3,63442
						VAL106	5,49241
						PRO77	4,29991
						PRO77	4,87893
						VAL161	4,88033
						LEU115	4,1872
						ILE117	4,50145
						ILE88	5,24251

						LEU115	5,49506
						PHE83	5,45164
						PHE83	5,25135
						PHE83	5,22874
						PHE85	4,80791
						HIS165	4,80448
β-pinène	-5.3	0	0	0	0	PRO77	4,81503
						VAL106	4,59289
						LEU115	4,81379
						VAL106	4,55393
						LEU115	5,19405
						LEU115	4,77826
						PHE83	5,19552
						PHE83	4,55583

						HIS165	4,60698
						HIS165	5,1088
Géranial	-5.3	0	0	1	2,55334	HIS165	2,55334
						ALA103	3,44182
						ALA103	4,28948
						PRO77	4,77103
						LEU115	4,33449
						ILE117	4,95163
						ILE88	5,46028
						VAL106	4,97685
						PHE83	4,91046
						PHE85	4,96809
	-5.1	0	0	0	0	PRO77	5,47593
						ALA103	4,39176

Myrcène						VAL106	5,41958
						PRO77	4,30895
						PRO77	4,94449
						VAL161	4,7564
						LEU115	4,60398
						ILE88	5,08731
						VAL106	4,92033
						PHE83	5,2546
						PHE83	5,13987
						PHE83	4,5237
						HIS165	4,58955
						HIS165	4,92417
	-4.7	0	0	0	0	VAL106	5,33539
						LEU115	5,06726

2-Décanone						PHE83	5,27209
						HIS165	4,6313
2-Undécanol	-4.7	0	0	1	3,68733	ILE104	3,68733
						PRO77	4,18613
						ALA103	3,38019
						VAL106	5,4412
						LEU115	5,35487
						LEU115	4,89271
						VAL106	3,8419
						PHE83	5,30372
						PHE83	5,44415
						PHE85	5,23283
	-4.6	0	0	0	0	ALA159	4,06005
						LEU155	4,829

1-Décanol						LEU155	4,02233
						TYR264	4,90168
						TYR264	3,96929
2-Nonanone	-4.6	0	0	0	0	VAL106	5,3328
						PRO77	4,91639
						VAL161	4,90609
						PHE83	5,27158
						PHE83	5,06225
						HIS165	4,78244
1-Dodécanol	-4.5	0	0	1	3,5939	ILE104:O	3,5939
						PRO77	5,33886
						ALA103	5,25131
						VAL106	4,94031
						VAL106	5,24748

						LEU115	5,03864
2-Undécanone	-4.5	0	0	0	0	VAL106	5,1811
						LEU115	4,97054
						VAL106	4,37887
Ethylhexanoate	-4.5	0	0	2	2,75965	THR74	2,75965
					3,59832	ALA159	3,59832
						LEU155	4,26506
						TYR264	4,16888
Ethylactanoate	-4.5	0	0	2	2,06204	VAL106	2,06204
					3,72151	ILE104	3,72151
						PRO77	4,39939
						ALA103	3,73878
						LEU115	4,95843
						LEU115	4,80804

						PHE83	5,29837
						HIS165	4,53676

Tableau 34: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour chaque inhibiteur synthétique.

Molécules synthétiques	Score (Kcal/mol)	Liaison conventionnelle	Liaison carbone	Liaison hydrogène	Distance	Halogène	Distance	Electrostatique	Distance	Hydrophobie	Distance
Tau fluvalinate	-8.8	0	0	2	2,04104	3	3,25195			HIS165	2,04104
					3,25195		3,12152			ALA159	3,25195
							3,62099			HIS165	3,12152
										HIS165	3,62099
										HIS167	4,28763
										///	4,01577
										PHE83	4,97415
										HIS165	5,71821
										LEU109	4,44974
										LEU124	5,47217
										HIS113	5,18844

										HIS165	4,01184
										TYR169	5,47647
										PRO77	5,18693
Amitraz	-8.3	0	0	0	0	0	0	1	4,62361	ARG65	4,62361
										ALA103	4,32482
										LEU115	5,00001
										VAL106	3,67246
										LEU39	4,22443
										ARG61	4,45375
										VAL106	5,25508
										ILE71	5,05141
	-7.4	0	0	2	3,00071	0	0	0	0	ARG61	3,00071
					3,74437					ALA159	3,74437
										HIS167	3,7782

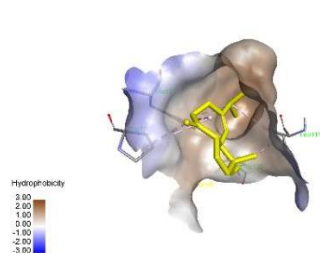
Coumaphos										LEU109	4,59143
										CYS280	4,62357
										PRO287	3,96893
										LEU124	4,74581
										LEU115	5,10605
										HIS165	3,93027
										HIS165	4,08787
										HIS167	3,82961
										AALA278	5,20557
										ALA278	3,92836
Acide formique	-3.2	0	0	1	2,05716	0	0	0	0	THR234	2,05716

Tableau 35: Résultat du docking et analyse moléculaire : Score, Liaison conventionnelle, Liaison carbone, Liaison hydrogène, Hydrophobie pour le ligand de référence.

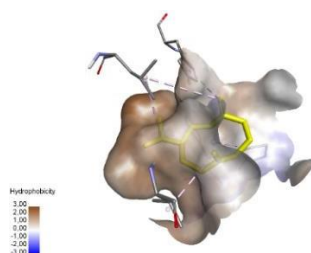
Ligand de référence	Score (Kcal/mol)	Liaison conventionnelle	Liaison carbone	Liaison hydrogène	Distance	Hydrophobie	Distance
Adénosine monophosphate	-7.2	0	0	4	2,21164	VAL106	2,21164
					2,47215	ASN105	2,47215
					2,34473	////	2,34473
					2,80158	ILE88	2,80158
						LEU115	4,9002

8. Interactions hydrophobes

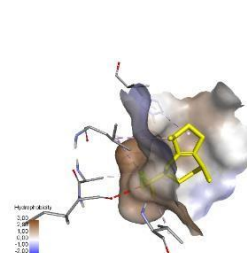
Les figures ci-dessous visualisées grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 ; représentent la différence entre les régions hydrophobes dans chaque complexe :



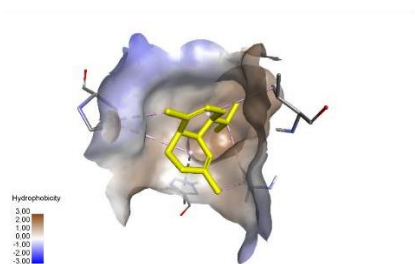
D-Glucose 1-phosphate / Alismol



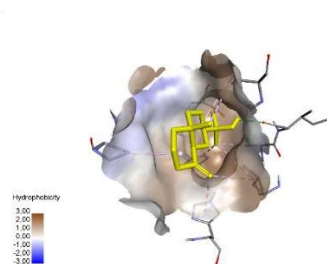
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



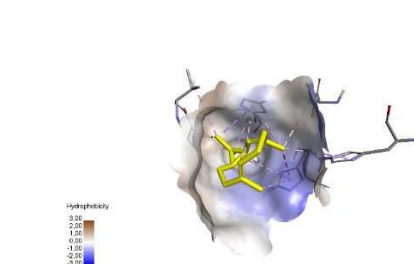
D-Glucose 1-phosphate / Guaiol



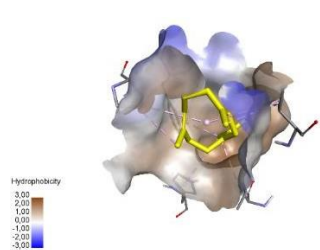
D-Glucose 1-phosphate / α-amorphène



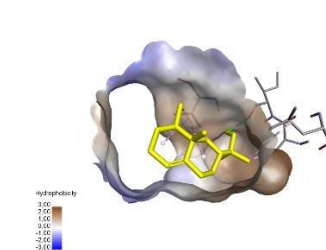
D-Glucose 1-phosphate / β-eudesmol



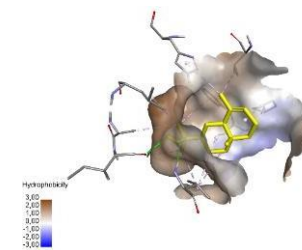
D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène



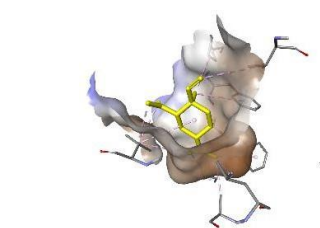
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène B



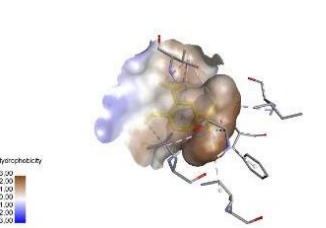
D-Glucose 1-phosphate / Valerianol



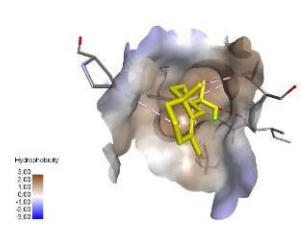
D-Glucose 1-phosphate / α-eudesmol



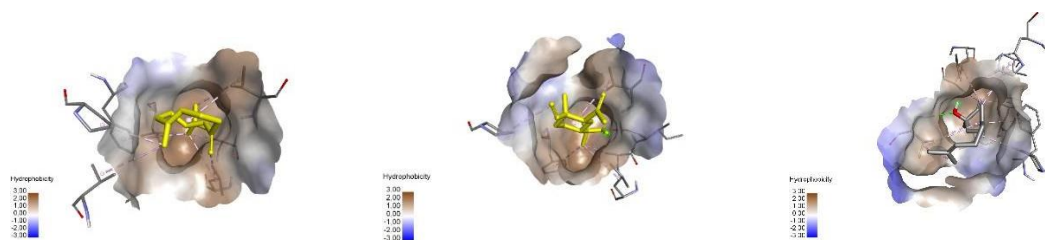
D-Glucose 1-phosphate / β-élémente



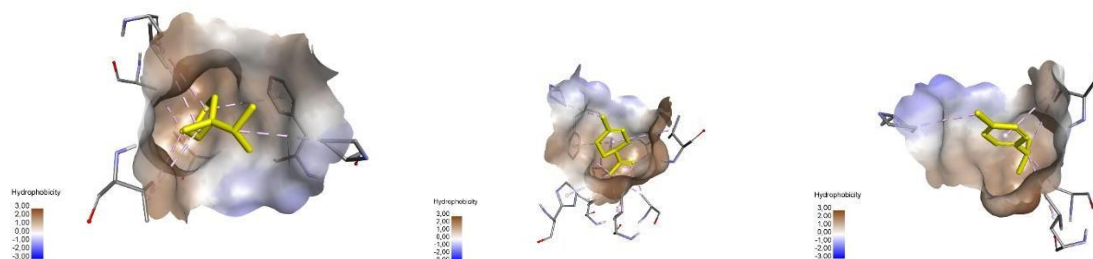
D-Glucose 1-phosphate / δ-élémente



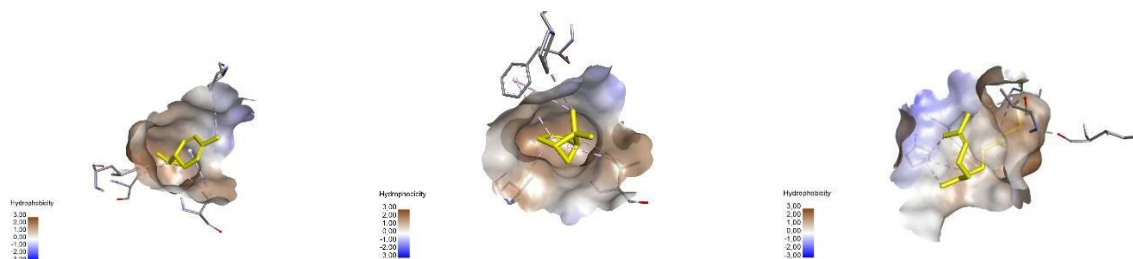
D-Glucose 1-phosphate / γ-eudesmol



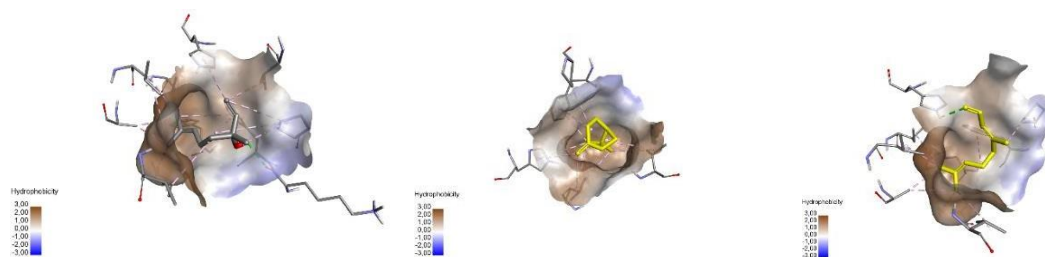
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



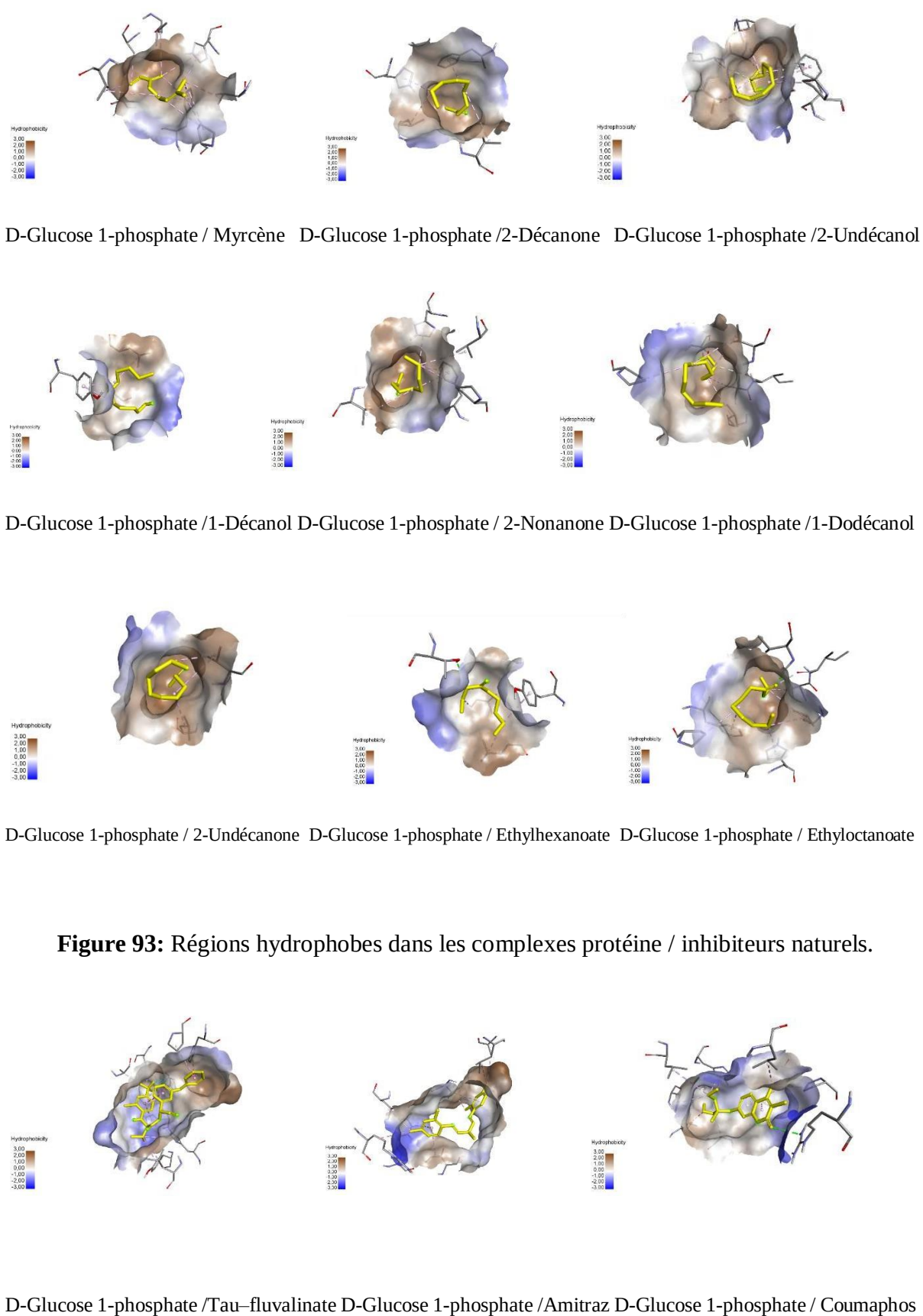
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène D-Glucose 1-phosphate / Limonène D-Glucose 1-phosphate / p-cimene

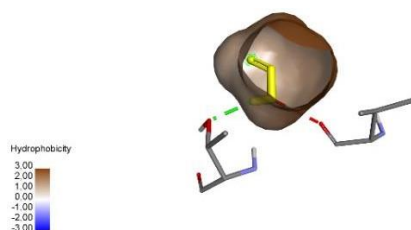


D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrène D-Glucose 1-phosphate / α -pinène D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)-farnesol



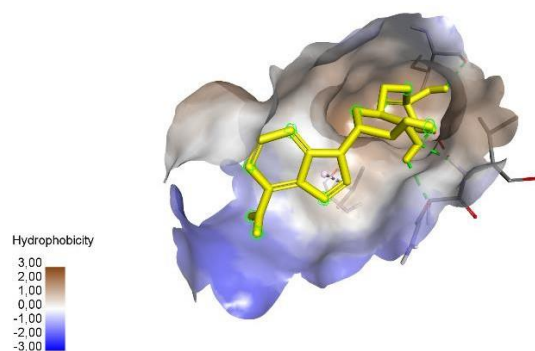
D-Glucose 1-phosphate / Linalool D-Glucose 1-phosphate / β -pinène D-Glucose 1-phosphate / Géraniol





D-Glucose 1-phosphate / Acide formique

Figure 94: Régions hydrophobes dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.



D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate

Figure 95: Régions hydrophobes dans le complexe protéine / ligand de référence.

Les interactions hydrophobes sont l'un des paramètres clé de la stabilité du complexe protéine / inhibiteur. La présence d'atomes d'eau dans les lieux rend cette zone d'interaction très adaptable et flexible (**Tiwari et al., 2019**).

Nous remarquons à partir des figures qu'il y a une différence entre les régions hydrophobes dans la totalité des complexes.

Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate a une région hydrophobe (marron clair) donc une hydrophobie moyenne, une région hydrophile (bleu clair) donc une hydrophilie moyenne aussi et une petite région neutre.

Pratiquement tous les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels ont une hydrophobie plus élevée (marron foncé) par rapport au le complexe D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate. Ils ont ainsi une faible hydrophilie et neutralité.

Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz et Tau-fluvalinate ont une région hydrophobe et hydrophile et une petite partie neutre. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Coumaphos a une région hydrophile et une grande partie neutre. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Acide formique est hydrophobe.

Les régions hydrophobes dans les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels sont différentes de celles du complexe D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate. La région hydrophobe est plus grande donc l'inhibition est plus élevée.

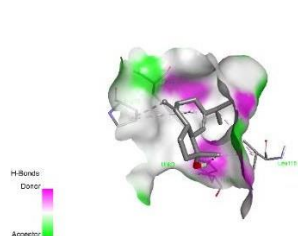
La région hydrophobe la plus élevée (marron foncé) se trouve dans pratiquement tous les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels.

Selon (Stoddard et al., 2020) l'augmentation des régions hydrophobes dans le site actif entraînera une augmentation de l'activité d'inhibition biologique.

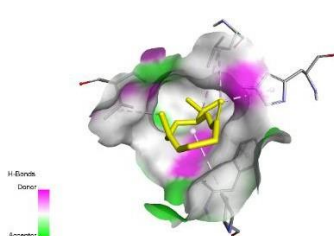
Il s'agit d'un paramètre très positif puisque cela veut dire que l'interaction entre les molécules naturelles et la protéine du *Varroa destructor* est stable et l'inhibition est élevée.

9. Interactions hydrogènes

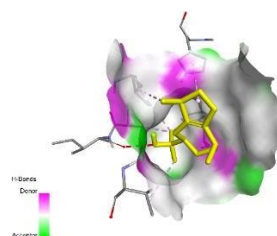
Les figures ci-dessous visualisées grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 ; représentent la différence entre les interactions hydrogènes (donneurs et accepteurs) dans chaque complexe :



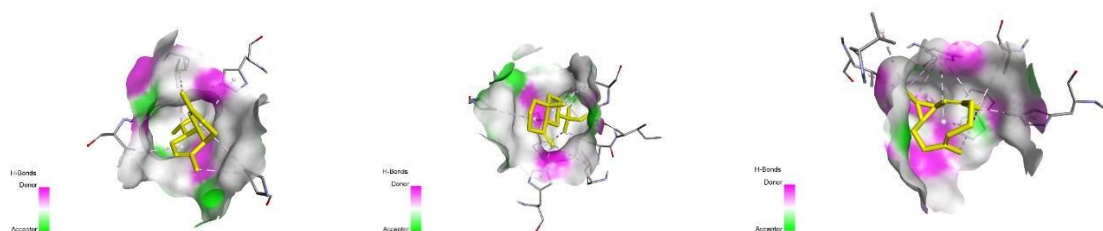
D-Glucose 1-phosphate / Alismol



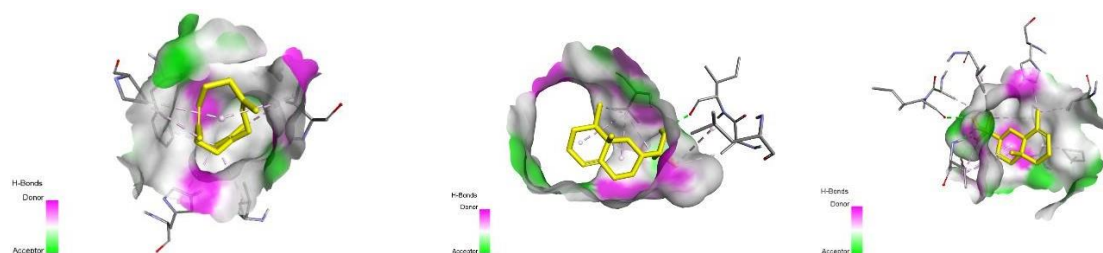
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



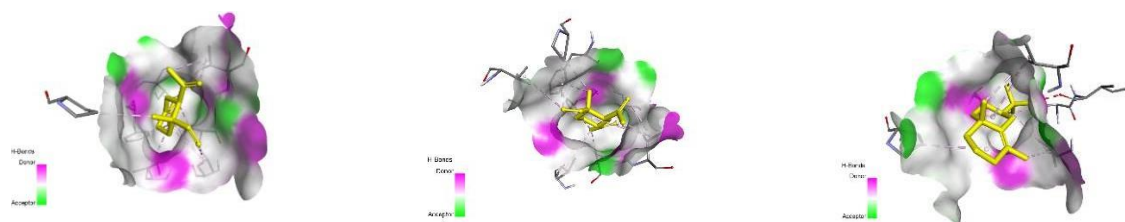
D-Glucose 1-phosphate / Guaiol



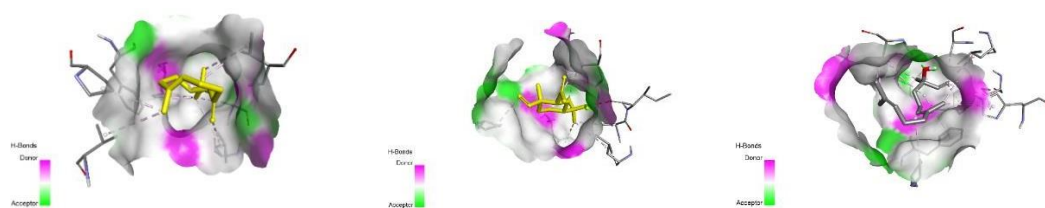
D-Glucose 1-phosphate / α -amorphène D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène



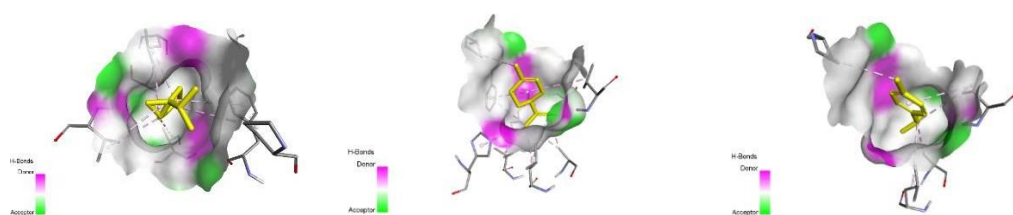
D-Glucose 1-phosphate/Germacrène B D-Glucose 1-phosphate/Valerianol D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol



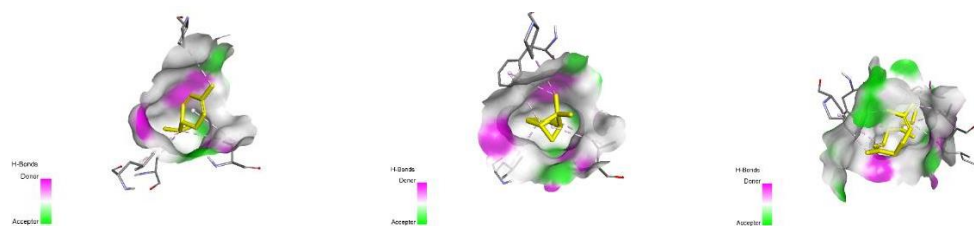
D-Glucose 1-phosphate / β -élémane D-Glucose 1-phosphate / δ -élémane D-Glucose 1-phosphate / γ -eudesmol



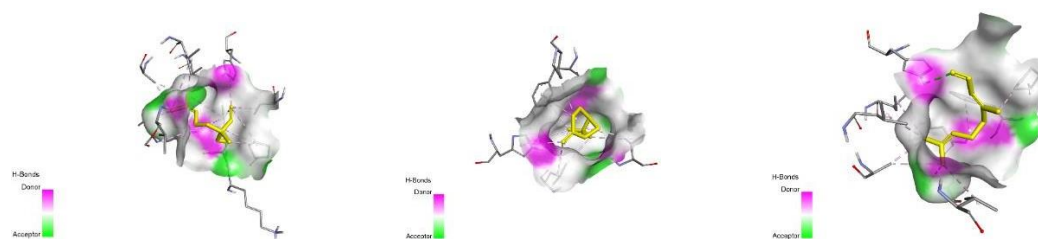
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



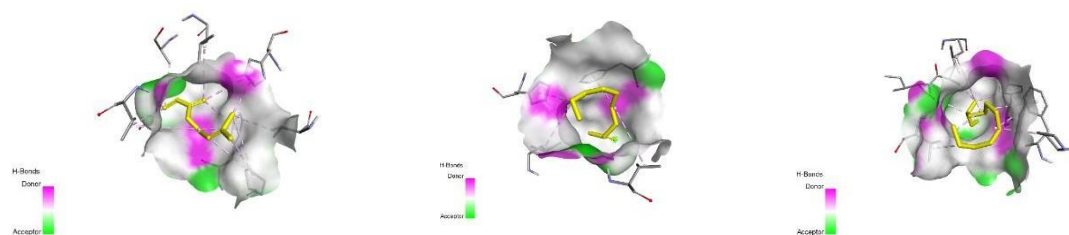
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène D-Glucose 1-phosphate / Limonène D-Glucose 1-phosphate / p-cimene



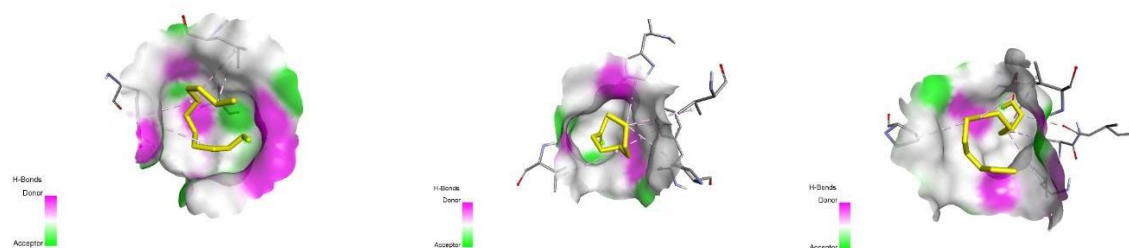
D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrène D-Glucose 1-phosphate / α -pinène D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)- farnesol



D-Glucose 1-phosphate / Linalool D-Glucose 1-phosphate / β -pinène D-Glucose 1-phosphate / Géraniol



D-Glucose 1-phosphate / Myrcène D-Glucose 1-phosphate / 2-Décanone D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanol



D-Glucose 1-phosphate / 1-Décanol D-Glucose 1-phosphate / 2-Nonanone D-Glucose 1-phosphate / 1-Dodécanol

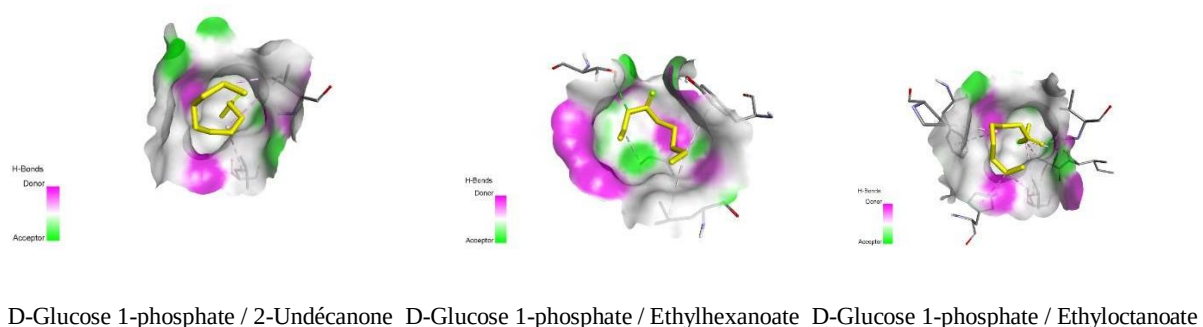


Figure 96: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.

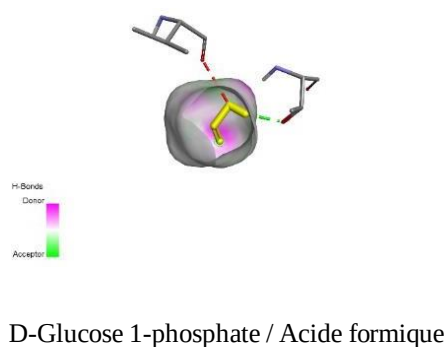
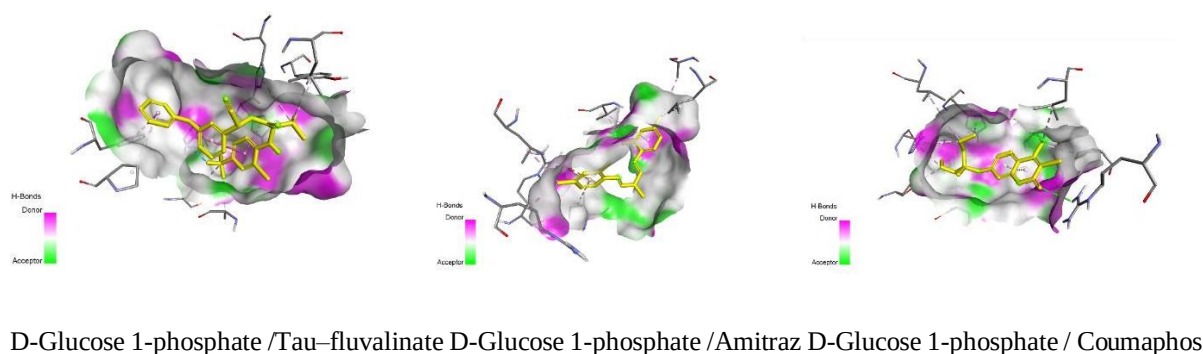
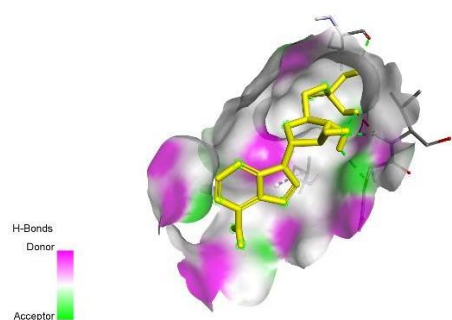


Figure 97: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.



D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate

Figure 98: Interactions hydrogènes (accepteurs / donneurs) dans le complexe protéine / ligand de référence.

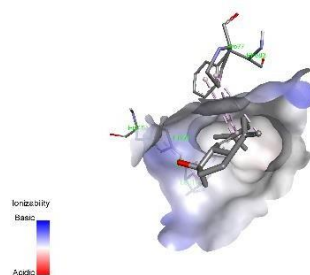
Comme les liaisons hydrophobes, les liaisons hydrogènes (**figure 96, 97et 98**) jouent un rôle crucial dans la stabilité des complexes (**Tiwari et al., 2019**).

Nous remarquons que les interactions hydrogènes sont différentes dans la totalité des complexes par rapport au ligand de référence.

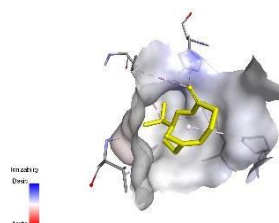
Les régions donneuses étaient supérieures dans pratiquement la totalité des inhibiteurs ; naturels, synthétiques et ligand de référence.

10. Interactions d'ionisabilité

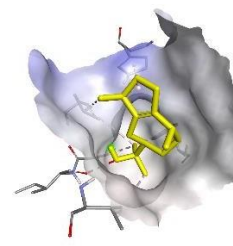
Les figures ci-dessous visualisées grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 ; représentent la différence entre les interactions d'ionisabilité dans chaque complexe :



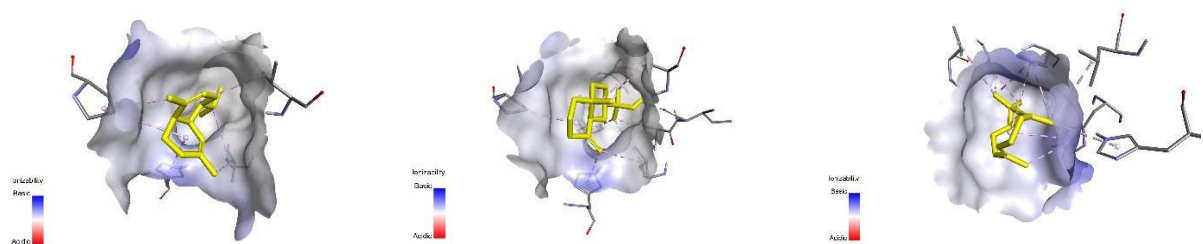
D-Glucose 1-phosphate / Alismol



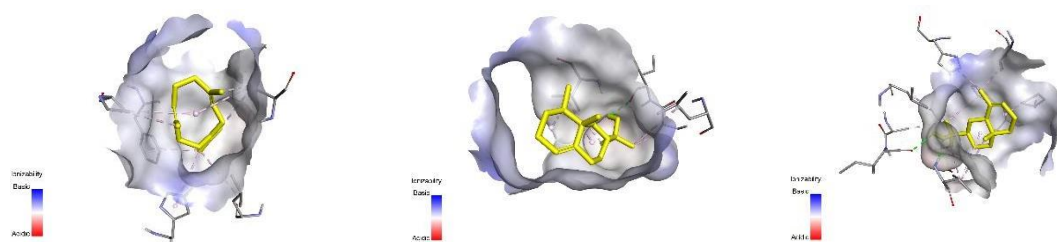
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



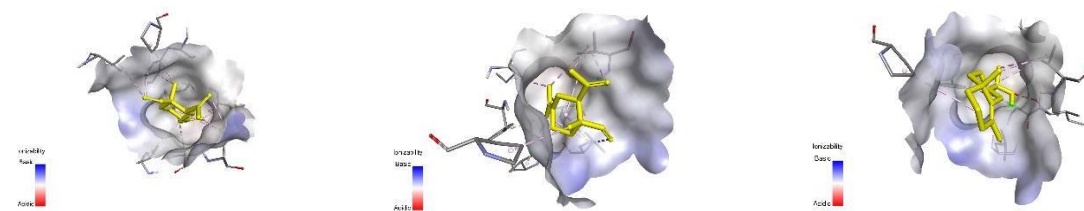
D-Glucose 1-phosphate / Guaiol



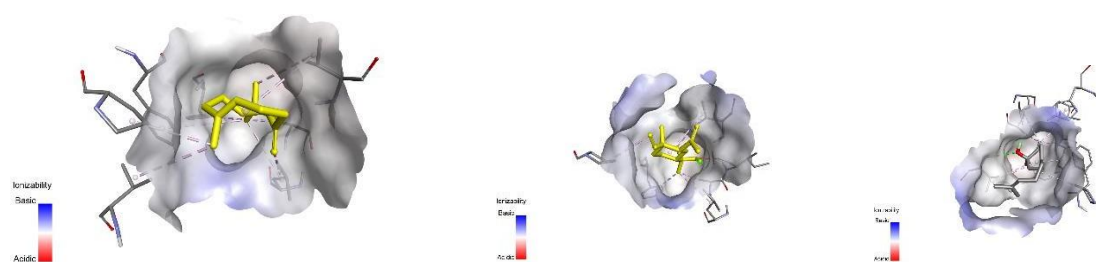
D-Glucose 1-phosphate / α -amorphène D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène



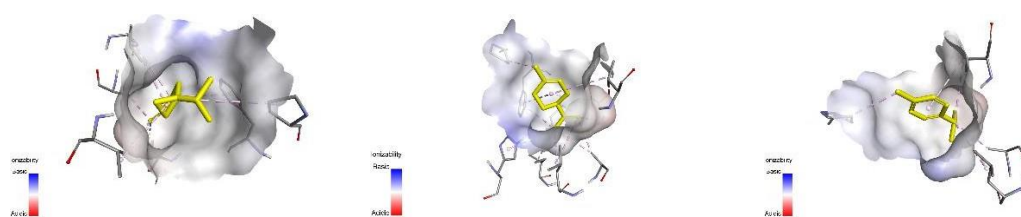
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène B D-Glucose 1-phosphate / Valerianol D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol



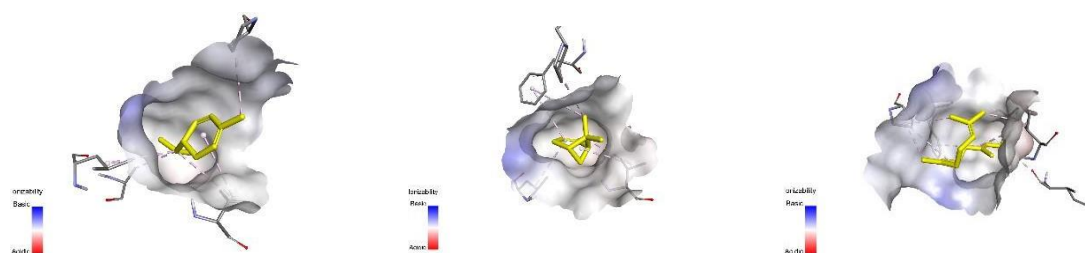
D-Glucose 1-phosphate / β -élémane D-Glucose 1-phosphate / δ -élémane D-Glucose 1-phosphate / γ -eudesmol



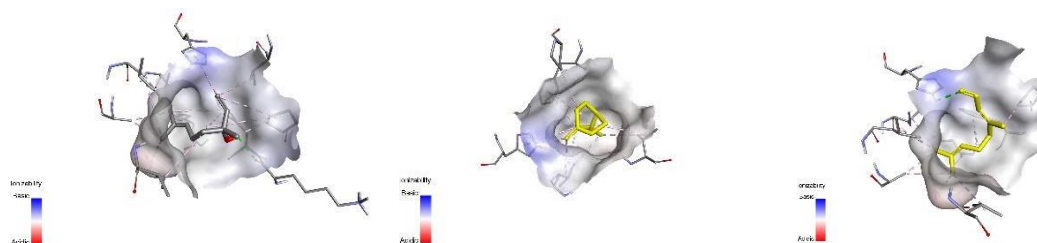
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



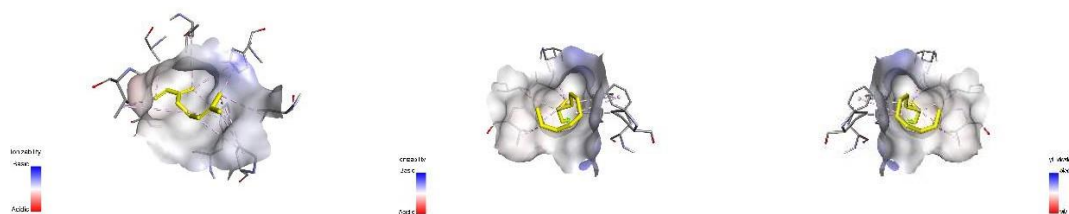
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène D-Glucose 1-phosphate / Limonène D-Glucose 1-phosphate / p-cimene



D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrene D-Glucose 1-phosphate / α -pinène D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)- farnesol



D-Glucose 1-phosphate / Linalool D-Glucose 1-phosphate / β -pinène D-Glucose 1-phosphate / Géraniol



D-Glucose 1-phosphate / Myrcène D-Glucose 1-phosphate / 2-Décanone D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanol

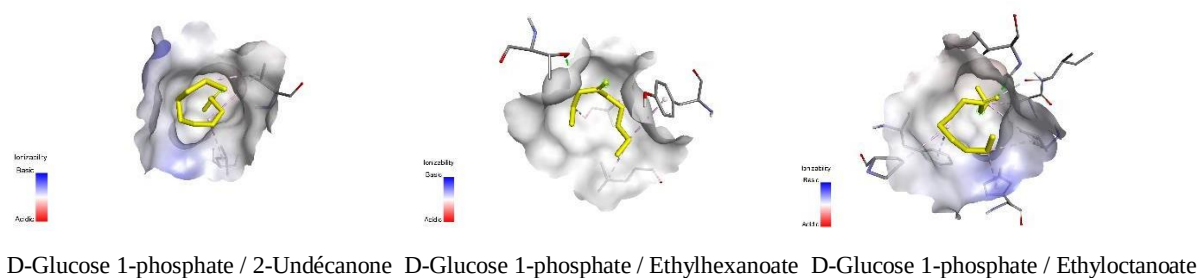
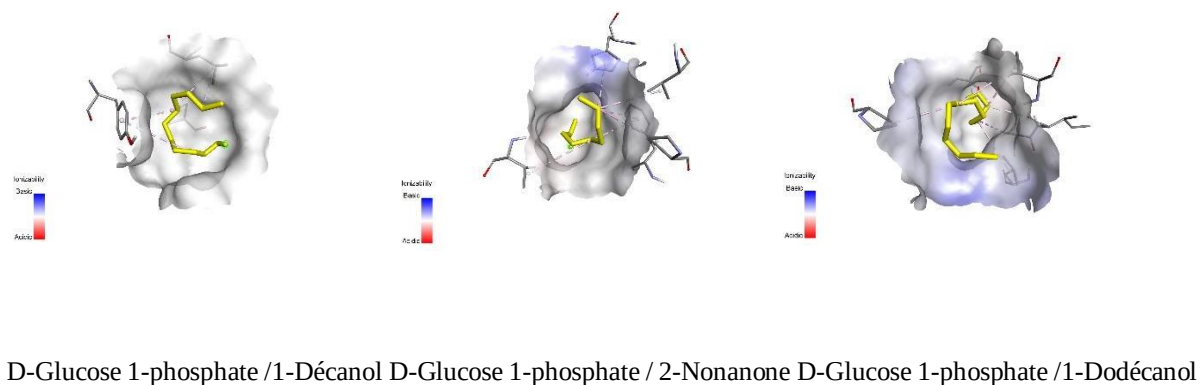
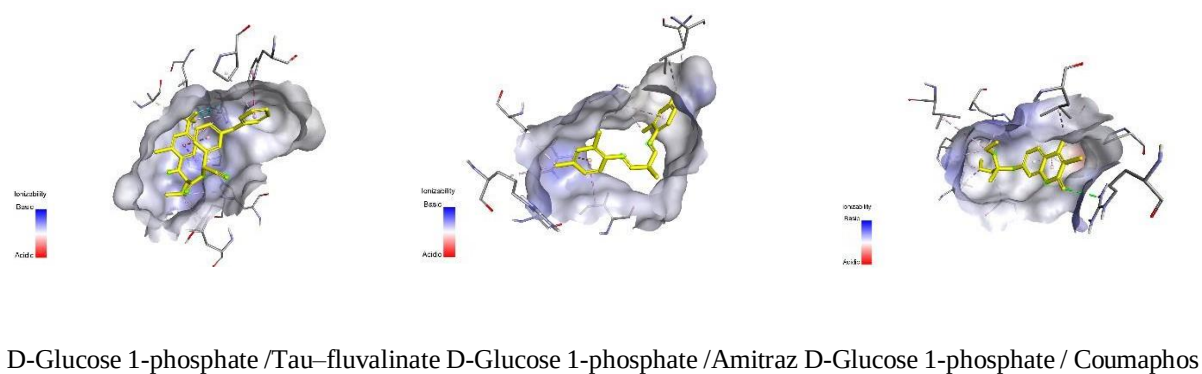


Figure 99: Interactions d'ionisabilité dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.



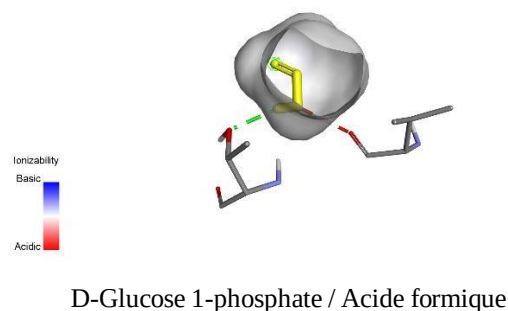


Figure 100: Interactions d'ionisabilité dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques.

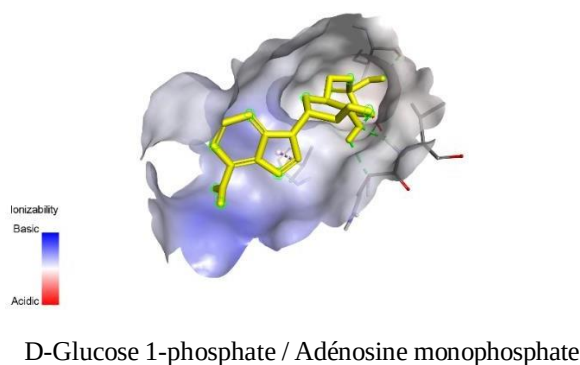


Figure 101: Interactions d'ionisabilité dans le complexe protéine / ligand de référence.

L'ionisation est le processus qui donne à une molécule une charge positive ou négative en captant ou en perdant des électrons.

L'interaction ionisable positive ou négative entre la protéine et l'inhibiteur est un paramètre pour les changements résultant après le docking (l'inhibition) et illustre également si la protéine devient une molécule basique ou acide (**Muchtaridi et al., 2017**).

Nous remarquons à partir des figures qu'il y a une différence entre les régions d'ionisabilité dans la totalité des complexes.

Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate montre une région neutre et des régions basiques (bleu clair).

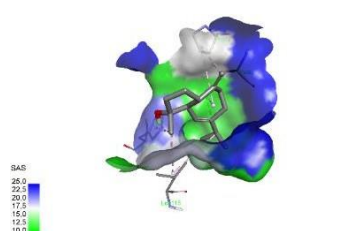
Les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels montrent des régions neutres et des petites régions basiques (bleu très clair) qui tendent vers la neutralité.

Les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs synthétiques montrent des régions neutres et des petites régions basiques (bleu clair).

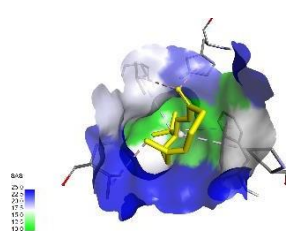
Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Acide formique est neutre.

11. Interactions SAS

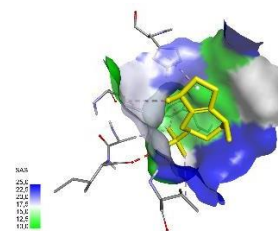
Les figures représentent les interactions SAS. Elles sont visualisées grâce au logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 :



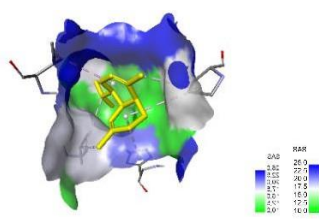
D-Glucose 1-phosphate / Alismol



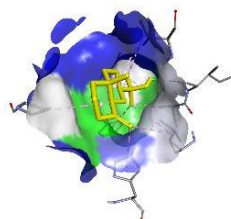
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène D



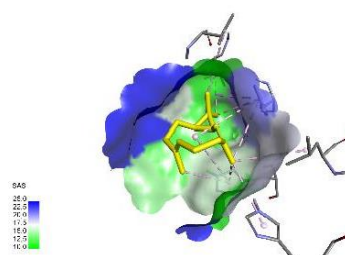
D-Glucose 1-phosphate / Guaiol



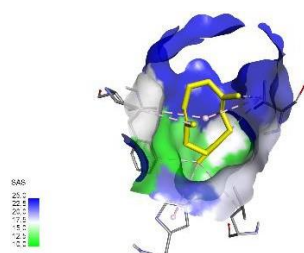
D-Glucose 1-phosphate / α -amorphène



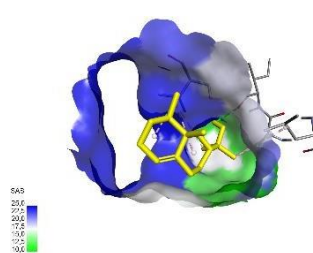
D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol



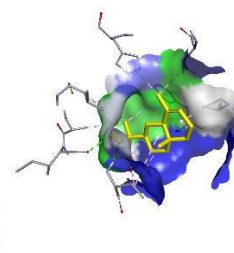
D-Glucose 1-phosphate / Bicyclogermacrène



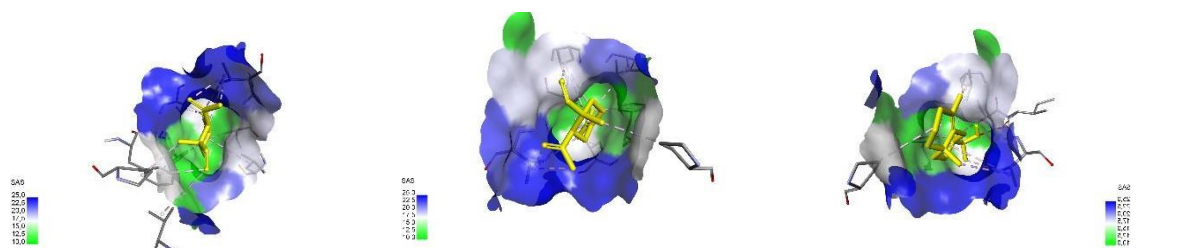
D-Glucose 1-phosphate / Germacrène B



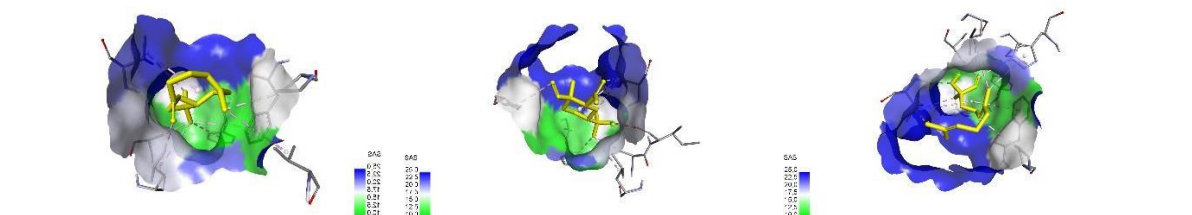
D-Glucose 1-phosphate / Valerianol



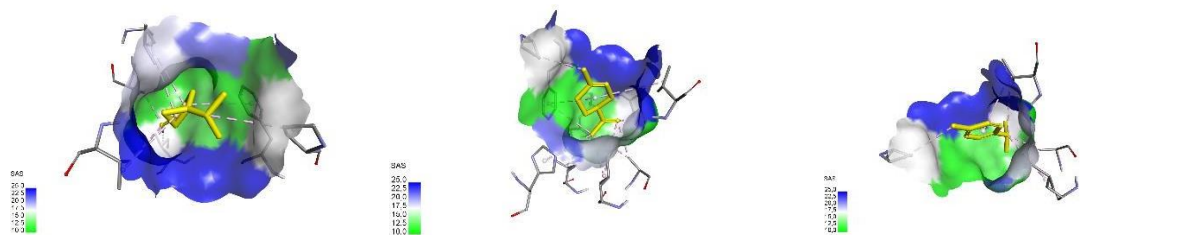
D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol



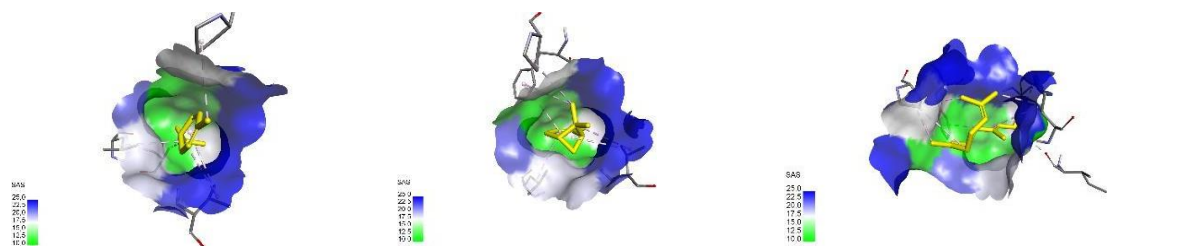
D-Glucose 1-phosphate / β -élémane D-Glucose 1-phosphate / δ -élémane D-Glucose 1-phosphate / γ -eudesmol



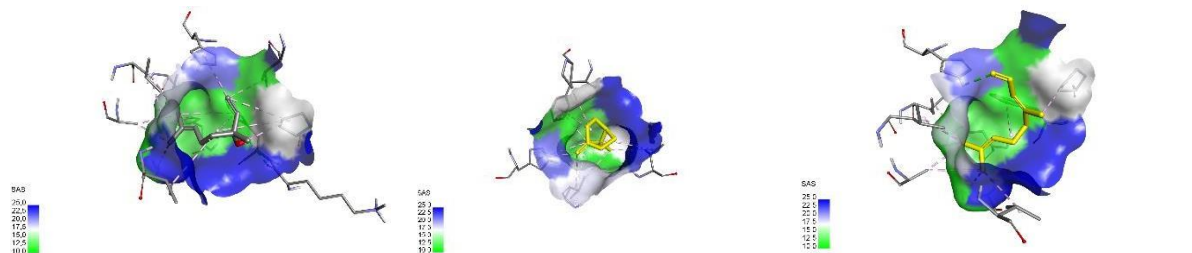
D-Glucose 1-phosphate / Transcaryophyllène D-Glucose 1-phosphate / β -élémol D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol



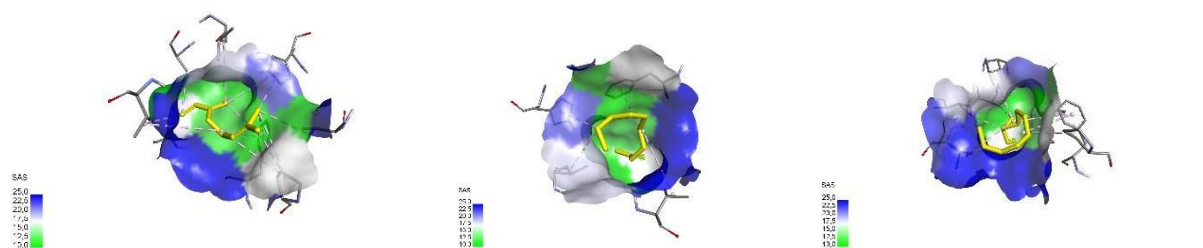
D-Glucose 1-phosphate / Sabinène D-Glucose 1-phosphate / Limonène D-Glucose 1-phosphate / p-cimene



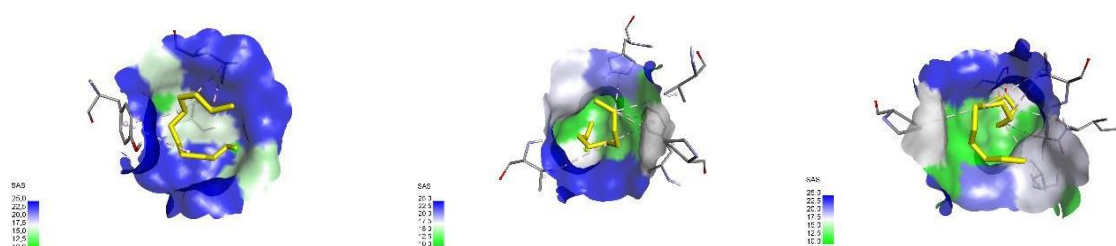
D-Glucose 1-phosphate / α -phellandrène D-Glucose 1-phosphate / α -pinène D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)- farnesol



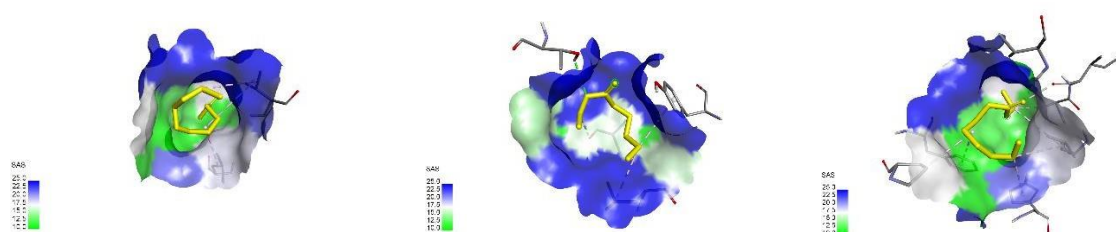
D-Glucose 1-phosphate / Linalool D-Glucose 1-phosphate / β -pinène D-Glucose 1-phosphate / Géraniol



D-Glucose 1-phosphate / Myrcène D-Glucose 1-phosphate / 2-Décanone D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanol

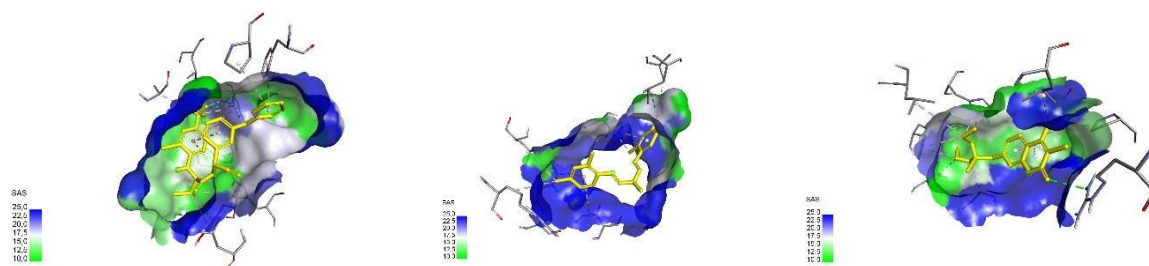


D-Glucose 1-phosphate / 1-Décanol D-Glucose 1-phosphate / 2-Nonanone D-Glucose 1-phosphate / 1-Dodécanol

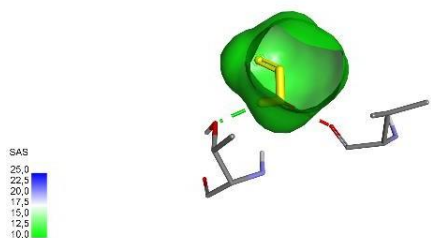


D-Glucose 1-phosphate / 2-Undécanone D-Glucose 1-phosphate / Ethylhexanoate D-Glucose 1-phosphate / Ethyloctanoate

Figure 102: Interactions SAS dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels.

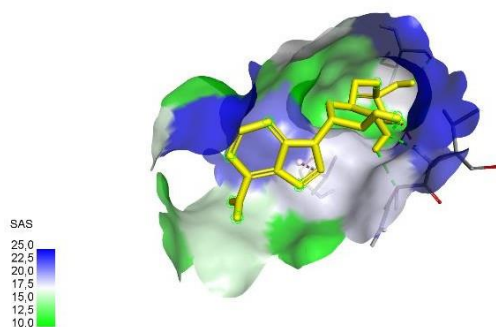


D-Glucose 1-phosphate / Tau-fluvalinate D-Glucose 1-phosphate / Amitraz D-Glucose 1-phosphate / Coumaphos



D-Glucose 1-phosphate / Acide formique

Figure 103: Interactions SAS dans les complexes protéine / inhibiteurs synthétiques



D-Glucose 1-phosphate / Adénosine monophosphate

Figure 104: Interactions SAS dans le complexe protéine / ligand de référence.

La surface accessible SAS par le solvant correspond à toutes les positions possibles du centre d'une boule représentant le solvant, qui se déplacerait sur la surface de Van der Waals.

La boîte de dialogue d'accessibilité par le solvant calcule la surface accessible au solvant qui est en contact avec le solvant dans les résidus de protéines.

La modification du SAS sera causée par toute altération, qu'elle soit mutationnelle, chimique ou d'intégration avec des inhibiteurs, qui perturbe la conformation en place. En cas de multiplication des régions hydrophiles en raison de modifications, les modifications de conformation dans la protéine peuvent conduire à une exposition aux solvants (Zhihua et al., 2019).

Nous observons à partir des figures qu'il y a une différence entre les interactions SAS dans la totalité des complexes.

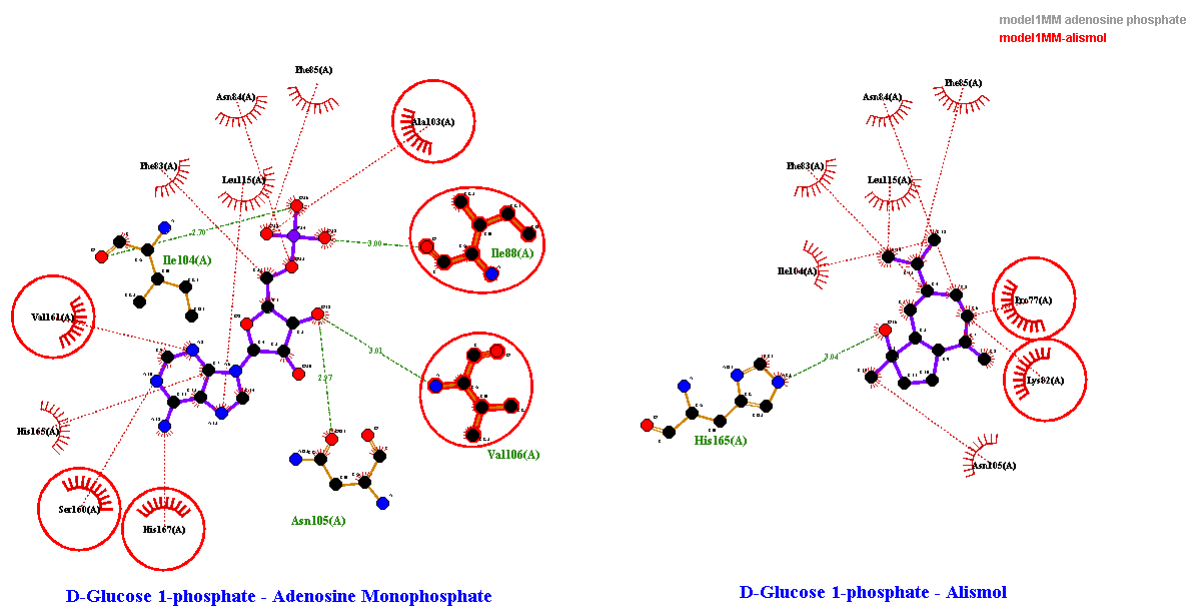
La surface SAS a augmenté dans les complexes D-Glucose 1-phosphate /1-Décanol, D-Glucose 1-phosphate / Ethylhexanoate et l'Amitraz

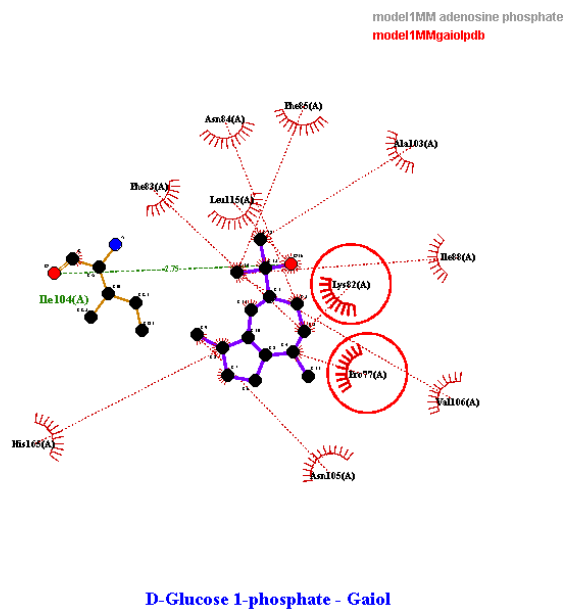
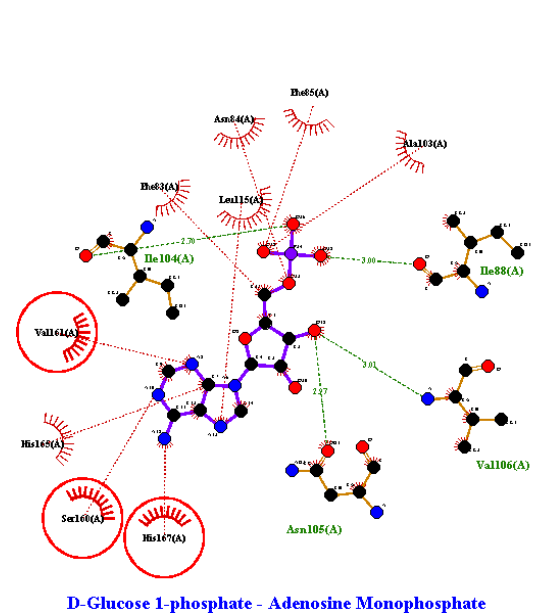
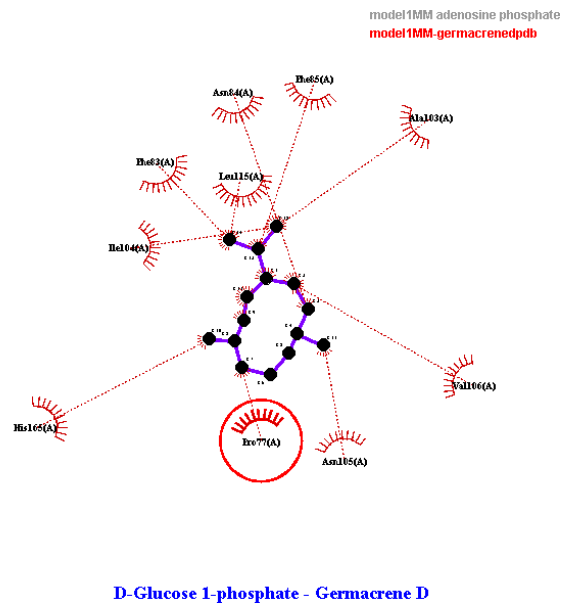
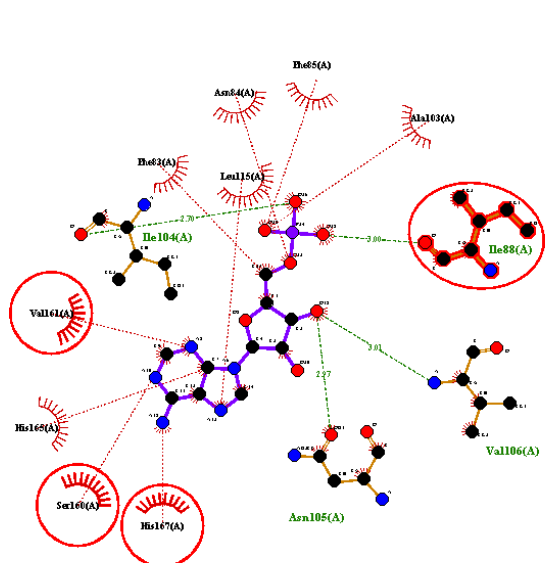
Le complexe D-Glucose 1-phosphate / Acide formique est hydrophobe et il y'a pas de surface avec le solvant.

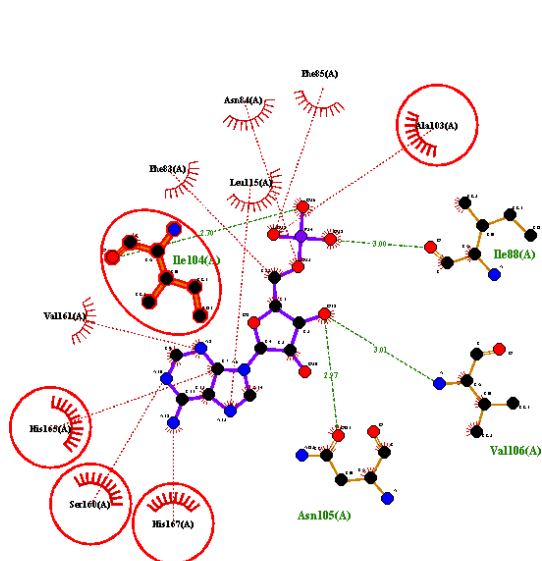
12. Cartes d'interaction 2D

En infographie, la méthode de la carte d'interaction 2D est utilisé pour illustrer la façon dont la protéine et les inhibiteurs interagissent (Guo et al., 2020; Pal et al., 2019).

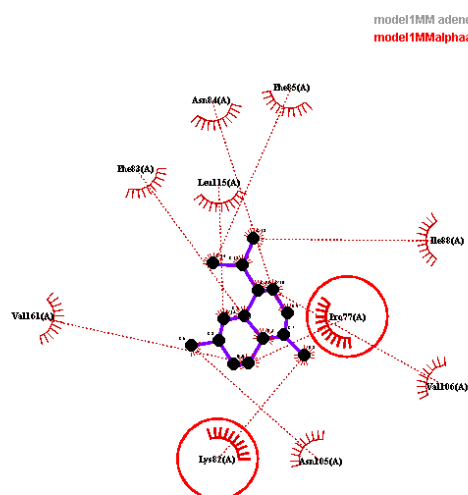
Les figures sont générées par le logiciel LigPlot⁺, version 2.2.8.



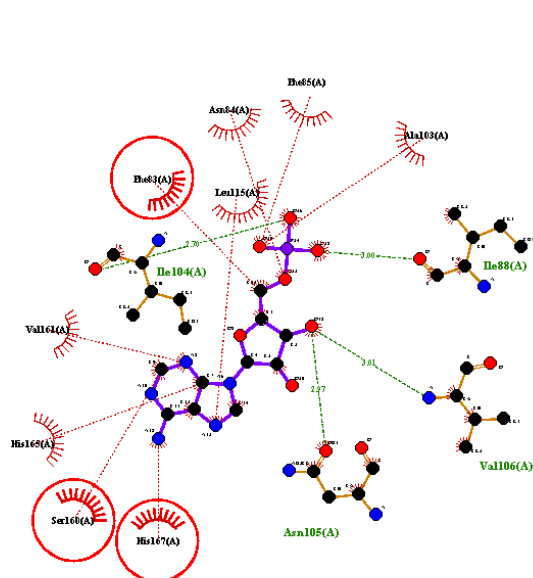




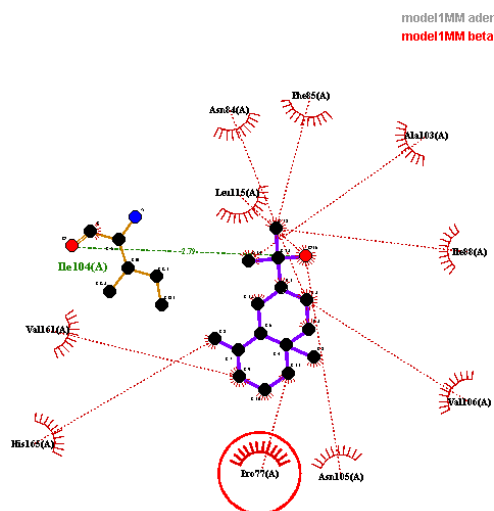
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



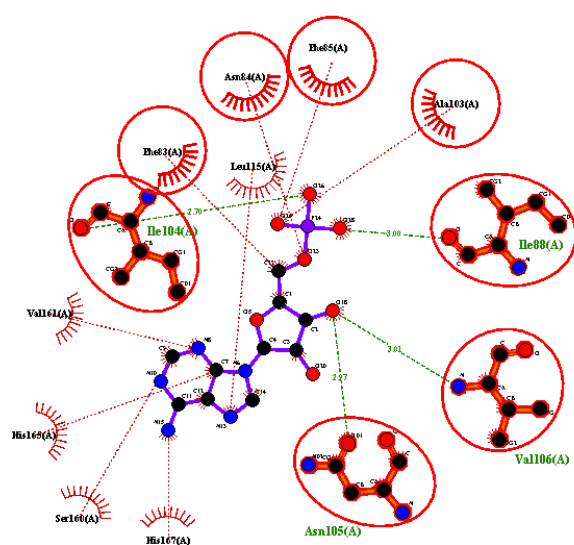
D-Glucose 1-phosphate - Alpha Amorphine



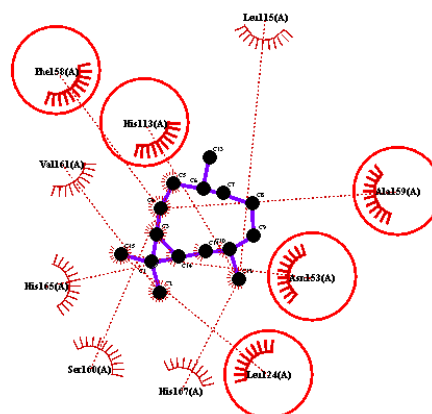
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



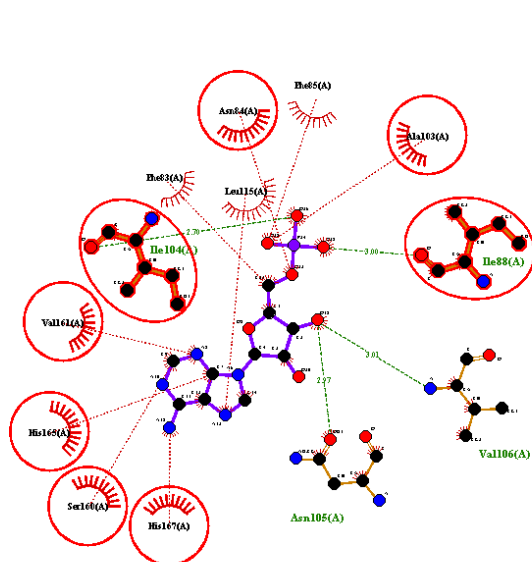
D-Glucose 1-phosphate - Beta Eudesmol



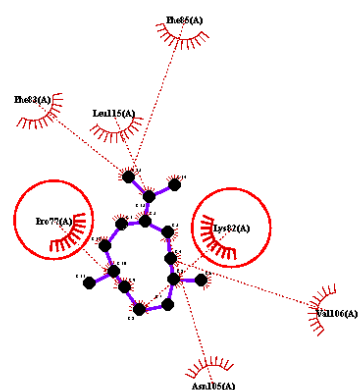
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



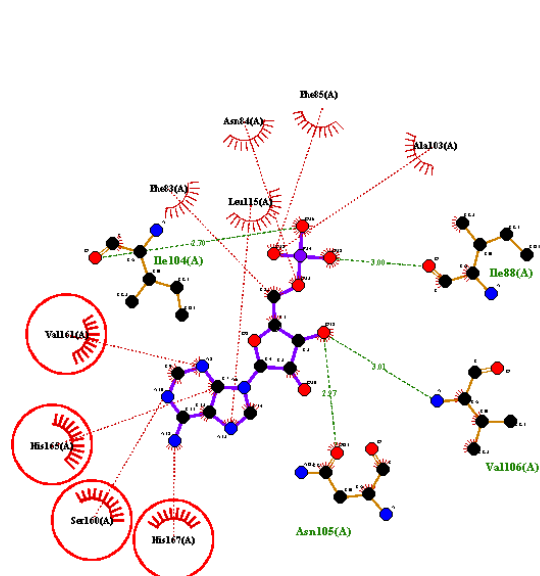
D-Glucose 1-phosphate - Bicyclogermacrene



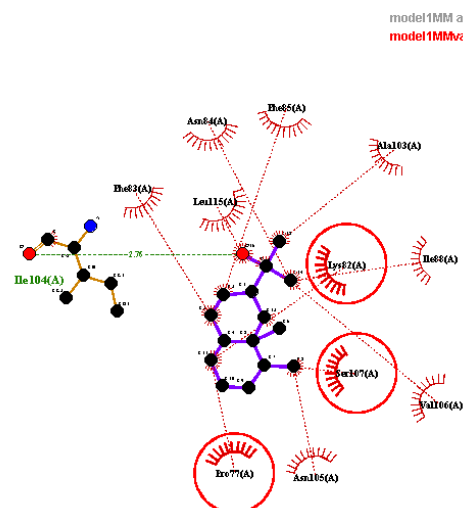
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



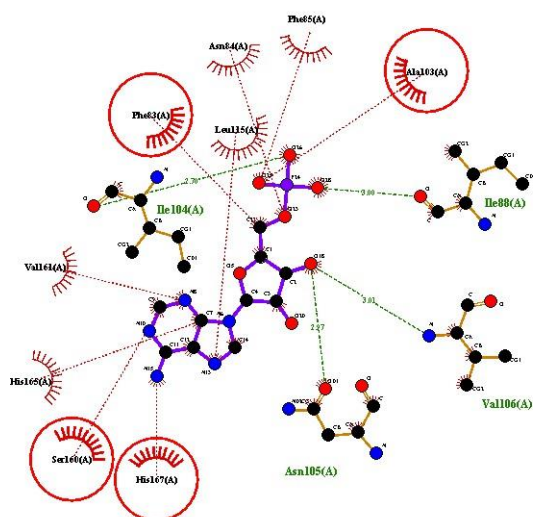
D-Glucose 1-phosphate - Germacrene B



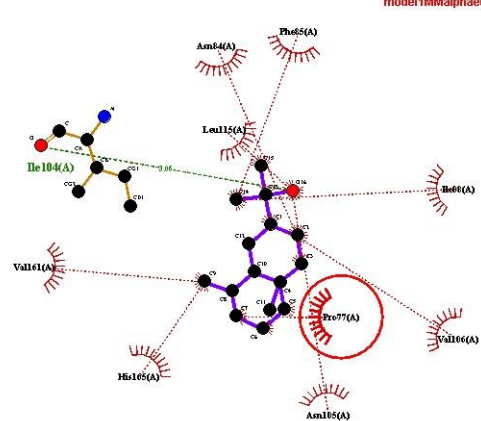
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



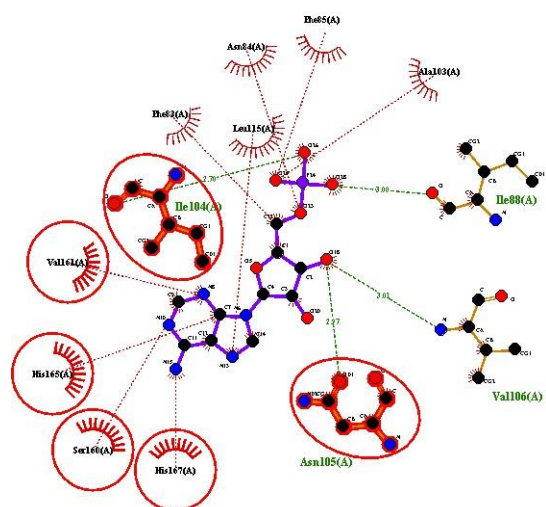
D-Glucose 1-phosphate - Valerianol



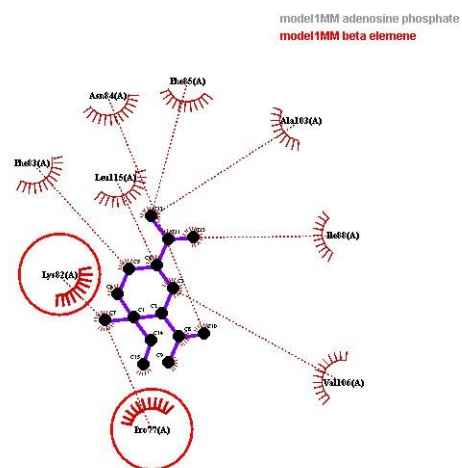
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



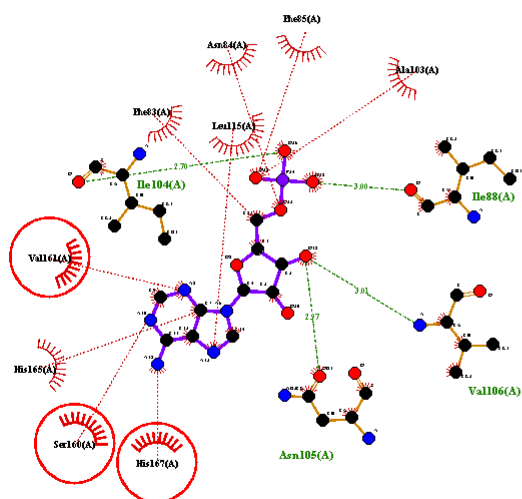
D-Glucose 1-phosphate - Alpha Eudesmol



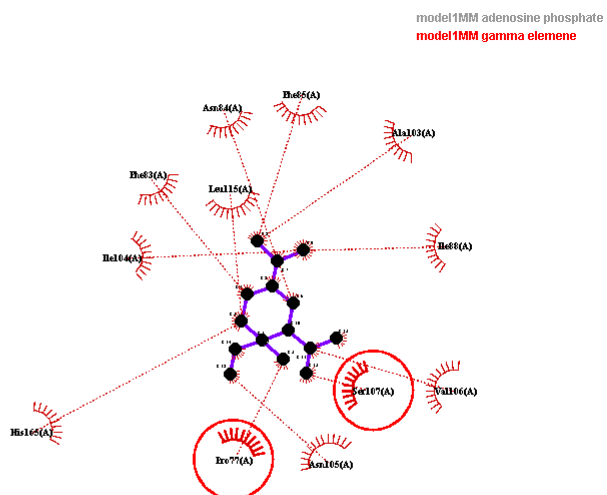
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



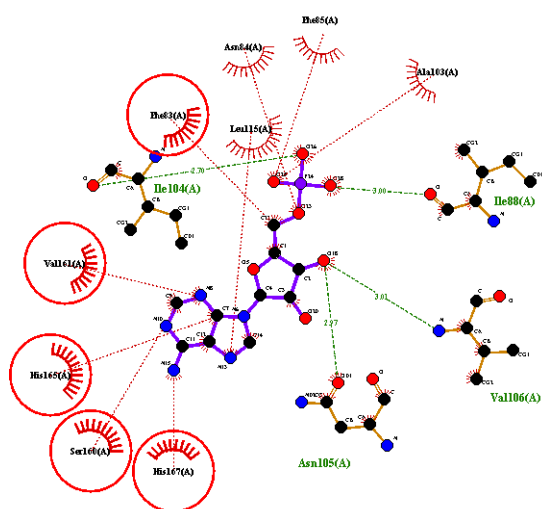
D-Glucose 1-phosphate - Beta Elemene



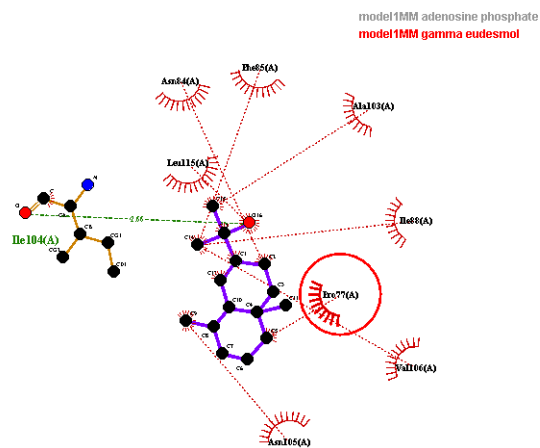
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



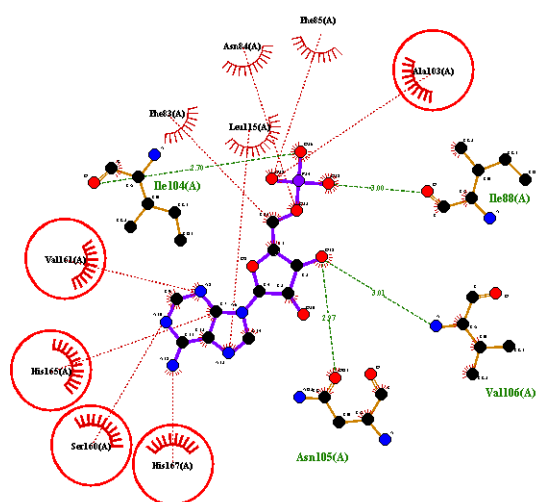
D-Glucose 1-phosphate - Gamma Elemene



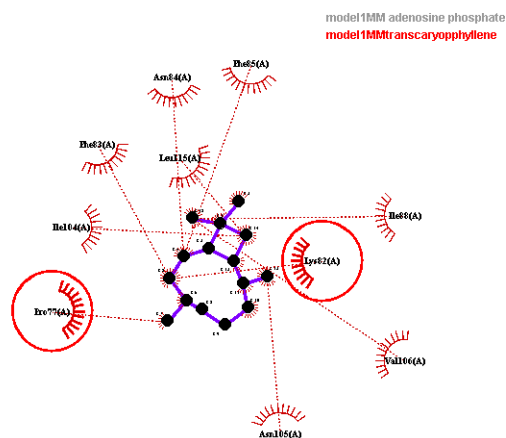
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



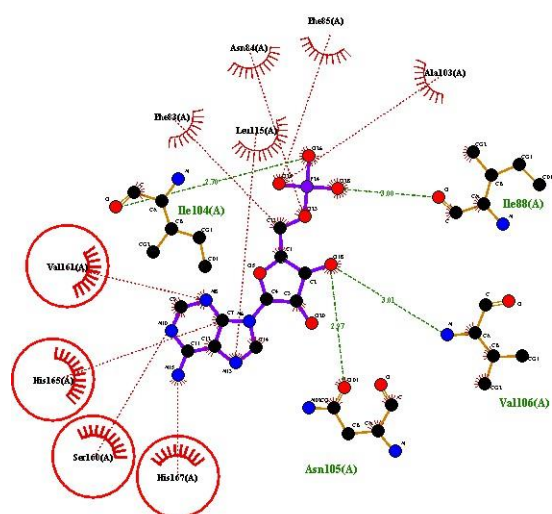
D-Glucose 1-phosphate - Gamma Eudesmol



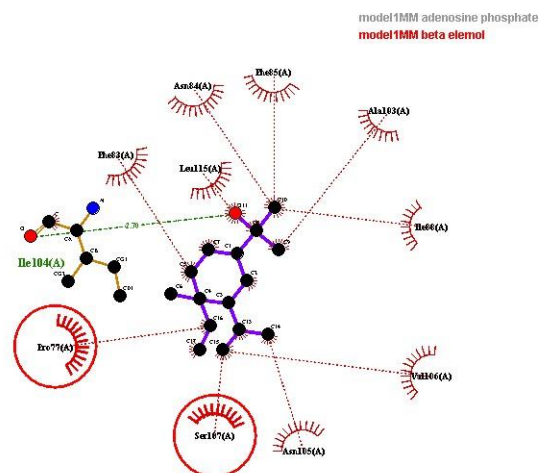
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



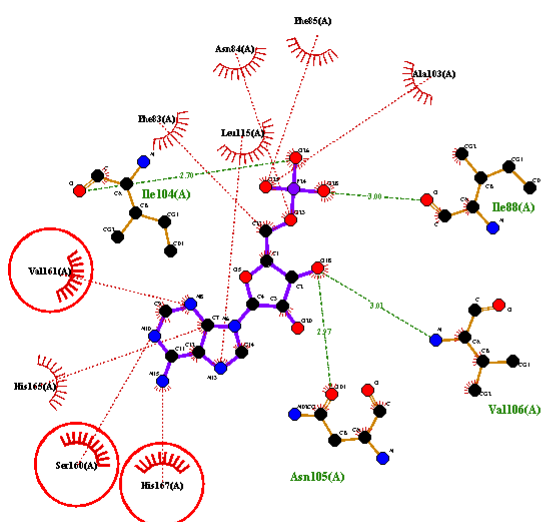
D-Glucose 1-phosphate - Transcaryophyllene



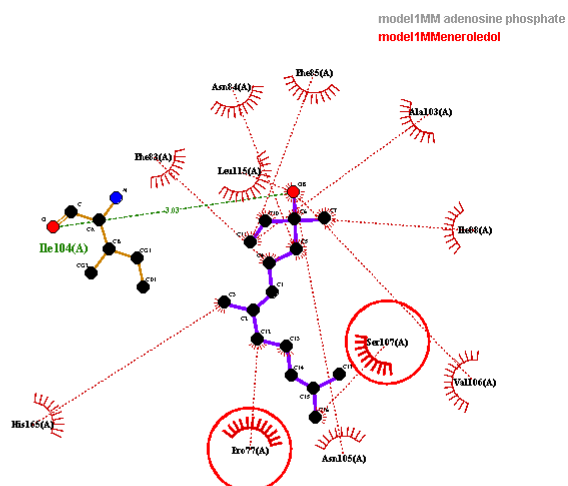
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



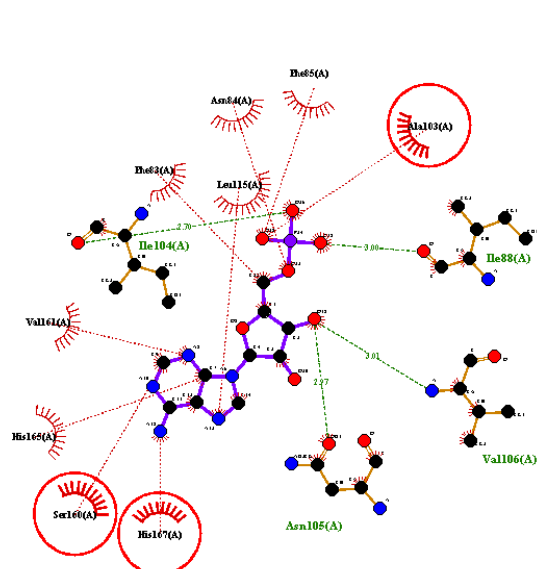
D-Glucose 1-phosphate - Beta Elemol



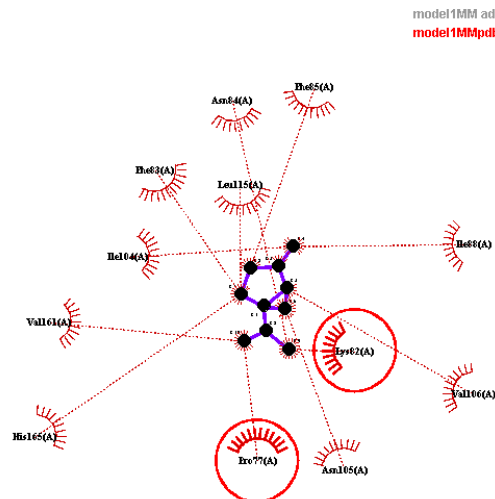
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



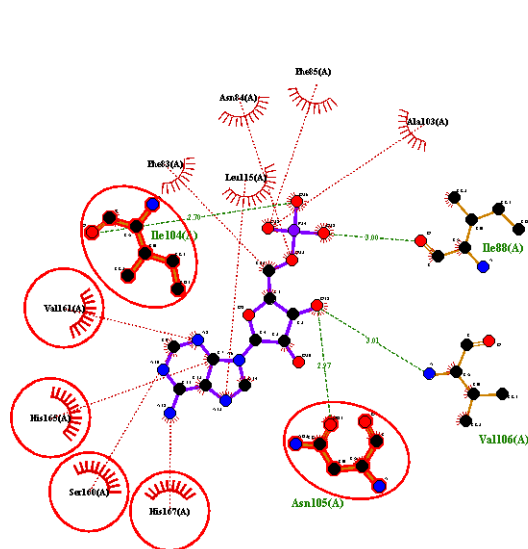
D-Glucose 1-phosphate - Eneoredol



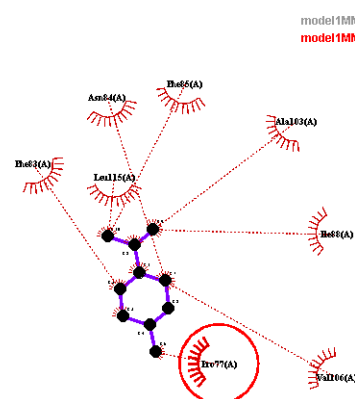
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



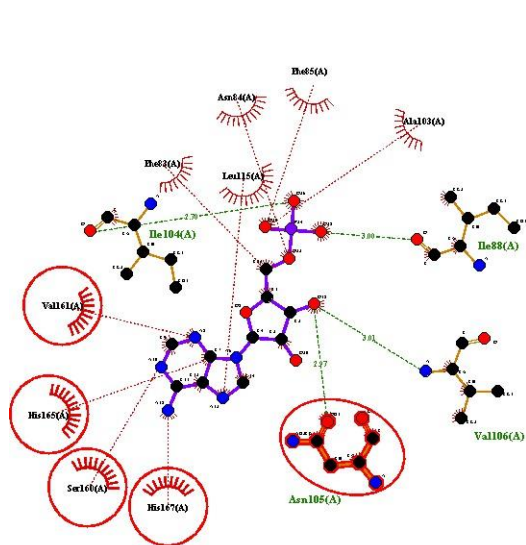
D-Glucose 1-phosphate - Sabinene



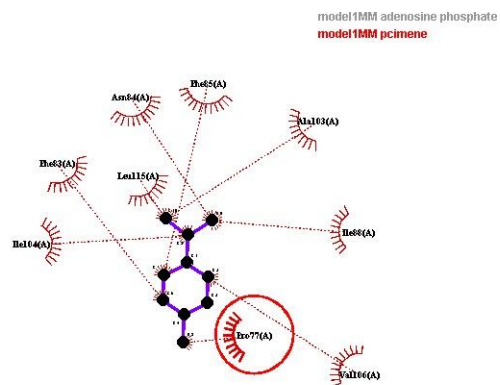
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



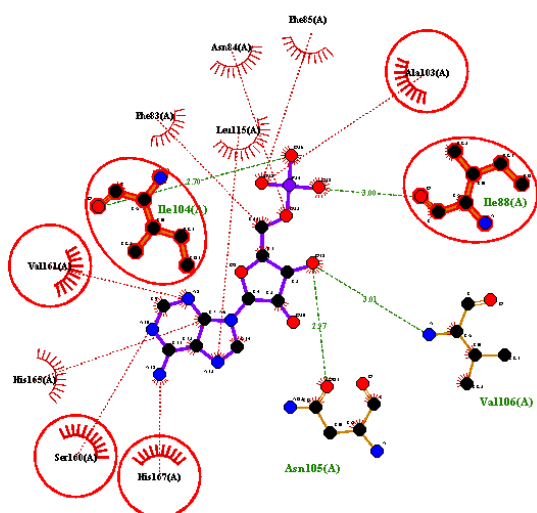
D-Glucose 1-phosphate - Limonene



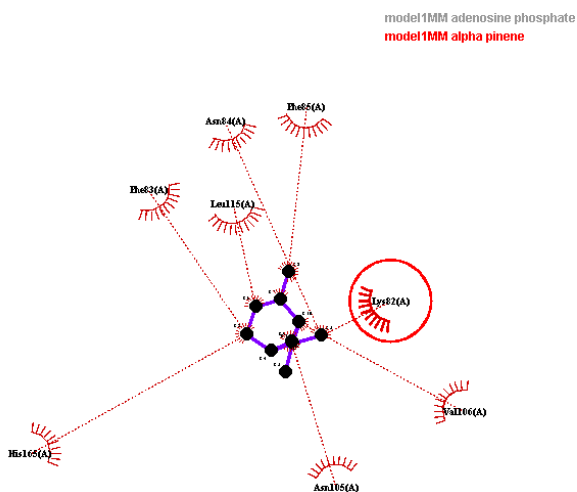
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



D-Glucose 1-phosphate - p cimene

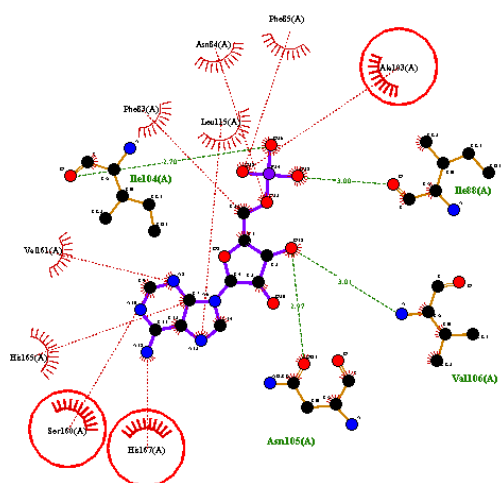


D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate

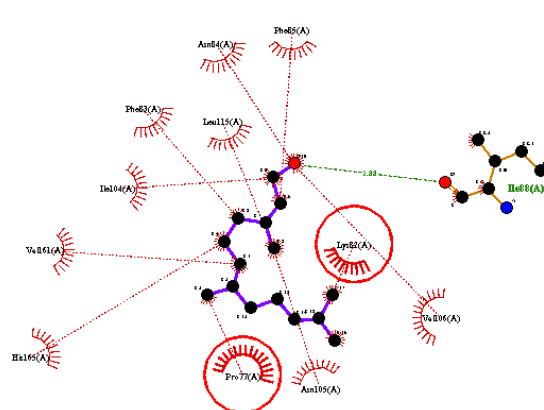


D-Glucose 1-phosphate - Alpha Pinene

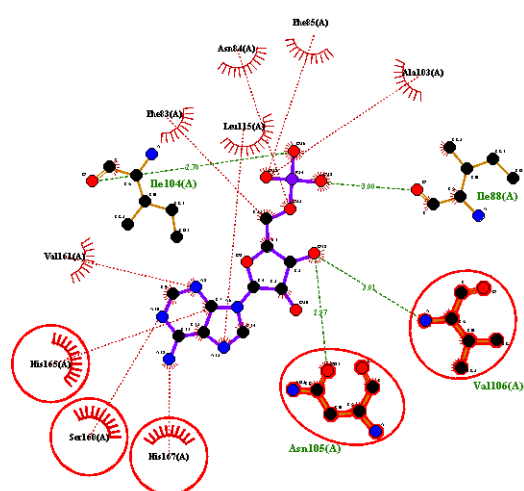
model1MM adenosine phosphate
model1MM Ezfarnesol



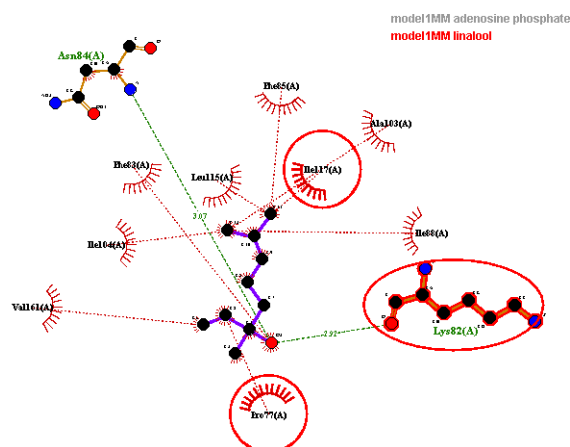
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



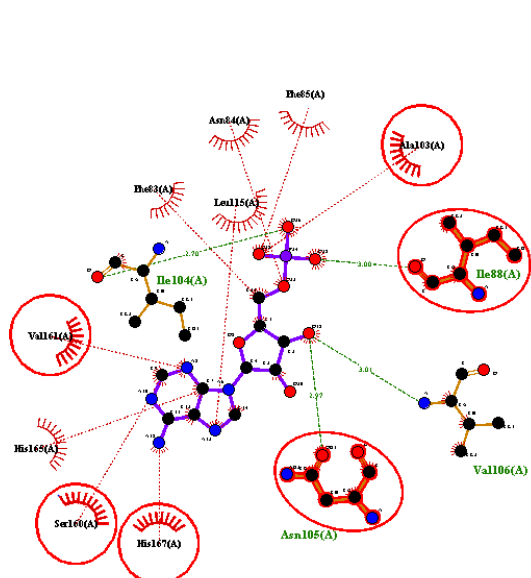
D-Glucose 1-phosphate - Ezfarnesol



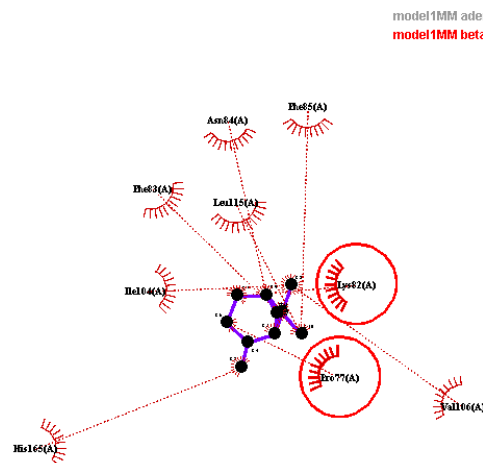
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



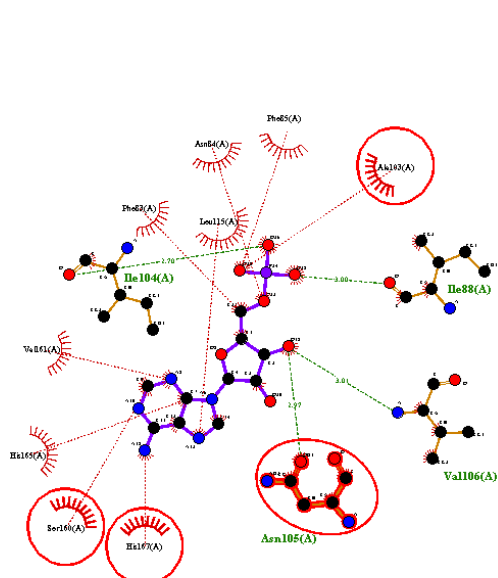
D-Glucose 1-phosphate - Linalool



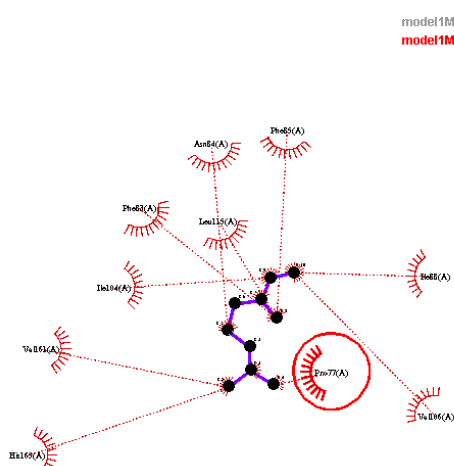
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



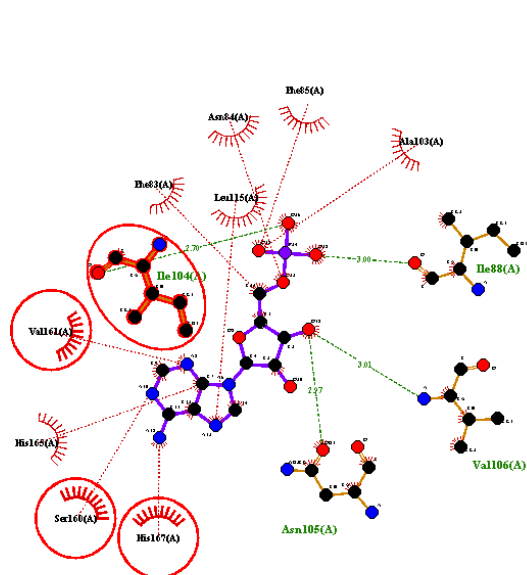
D-Glucose 1-phosphate - Beta Pinene



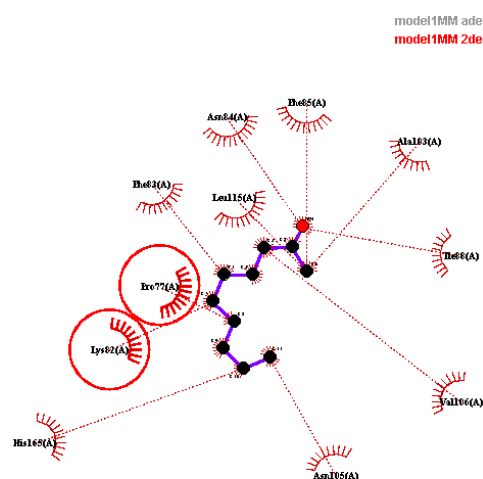
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



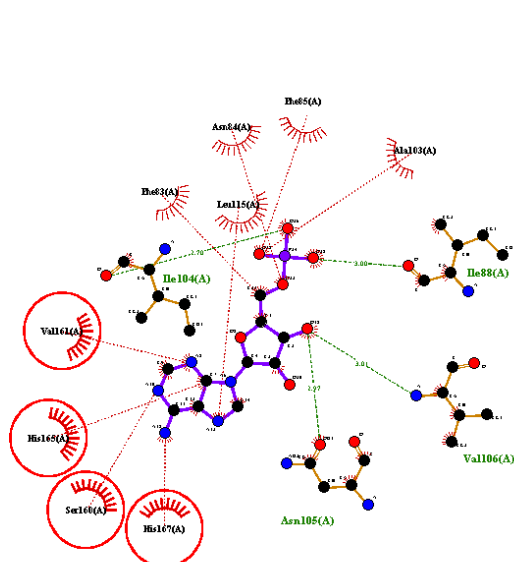
D-Glucose 1-phosphate - Myrcene



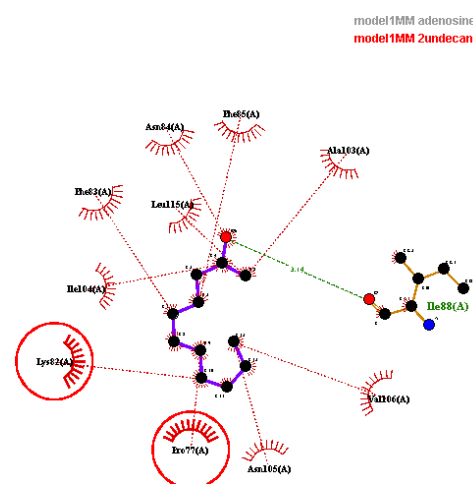
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



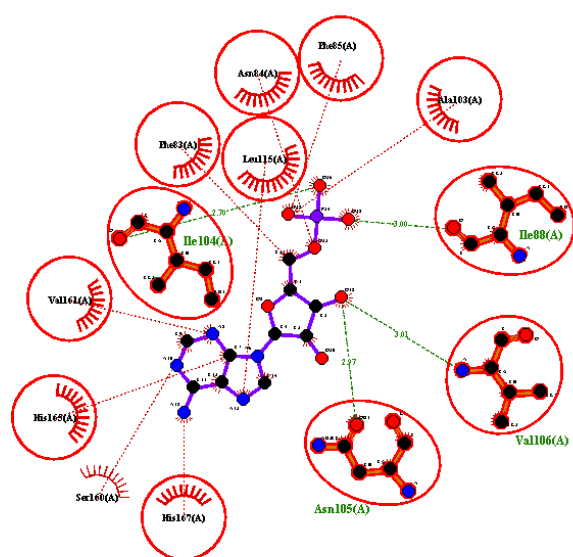
D-Glucose 1-phosphate - 2 Decanone



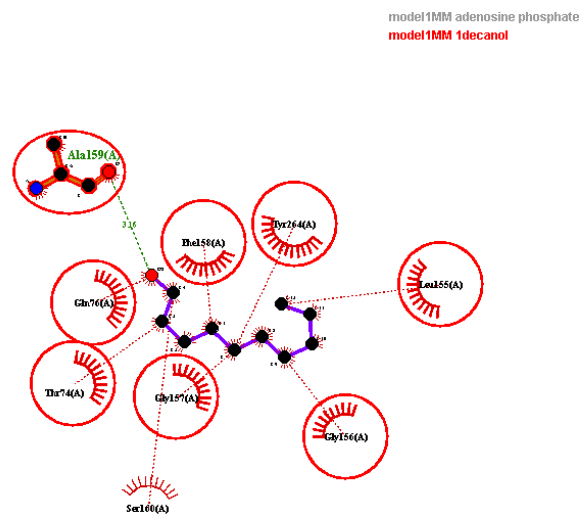
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



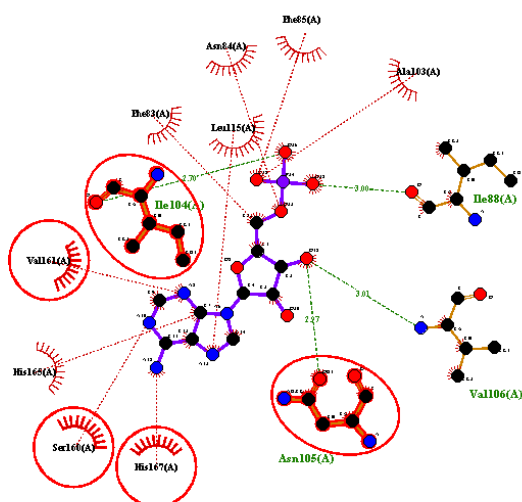
D-Glucose 1-phosphate - 2 Undecanol



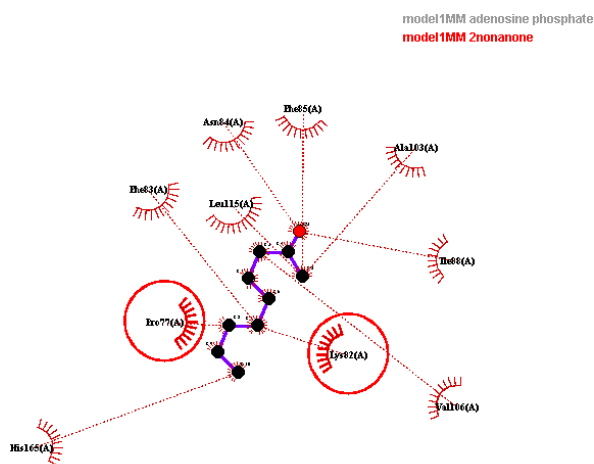
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



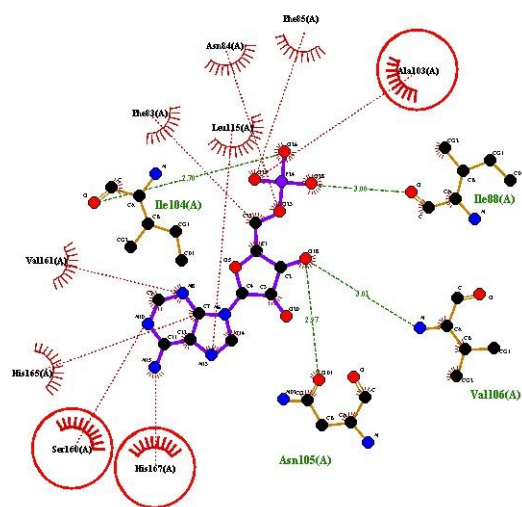
D-Glucose 1-phosphate - 1 Decanol



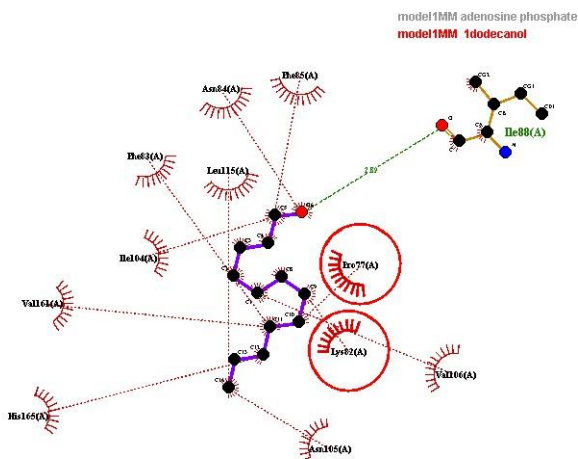
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



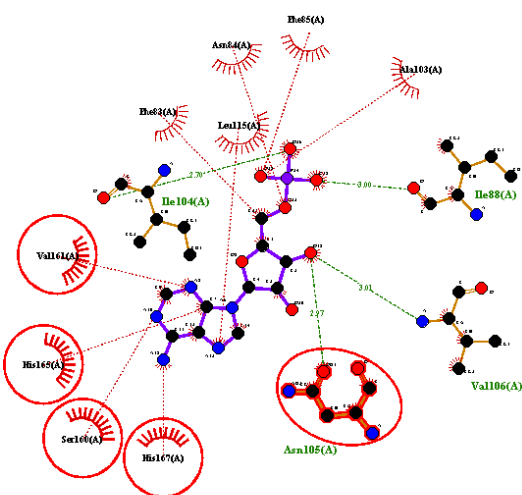
D-Glucose 1-phosphate - 2 Nonanone



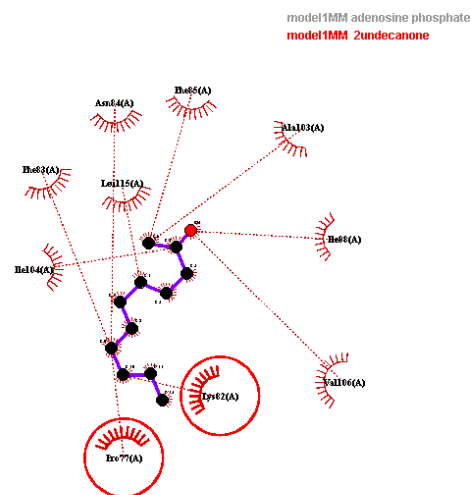
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



D-Glucose 1-phosphate - 1 Dodecanol



D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



D-Glucose 1-phosphate - 2 Undecanone

2

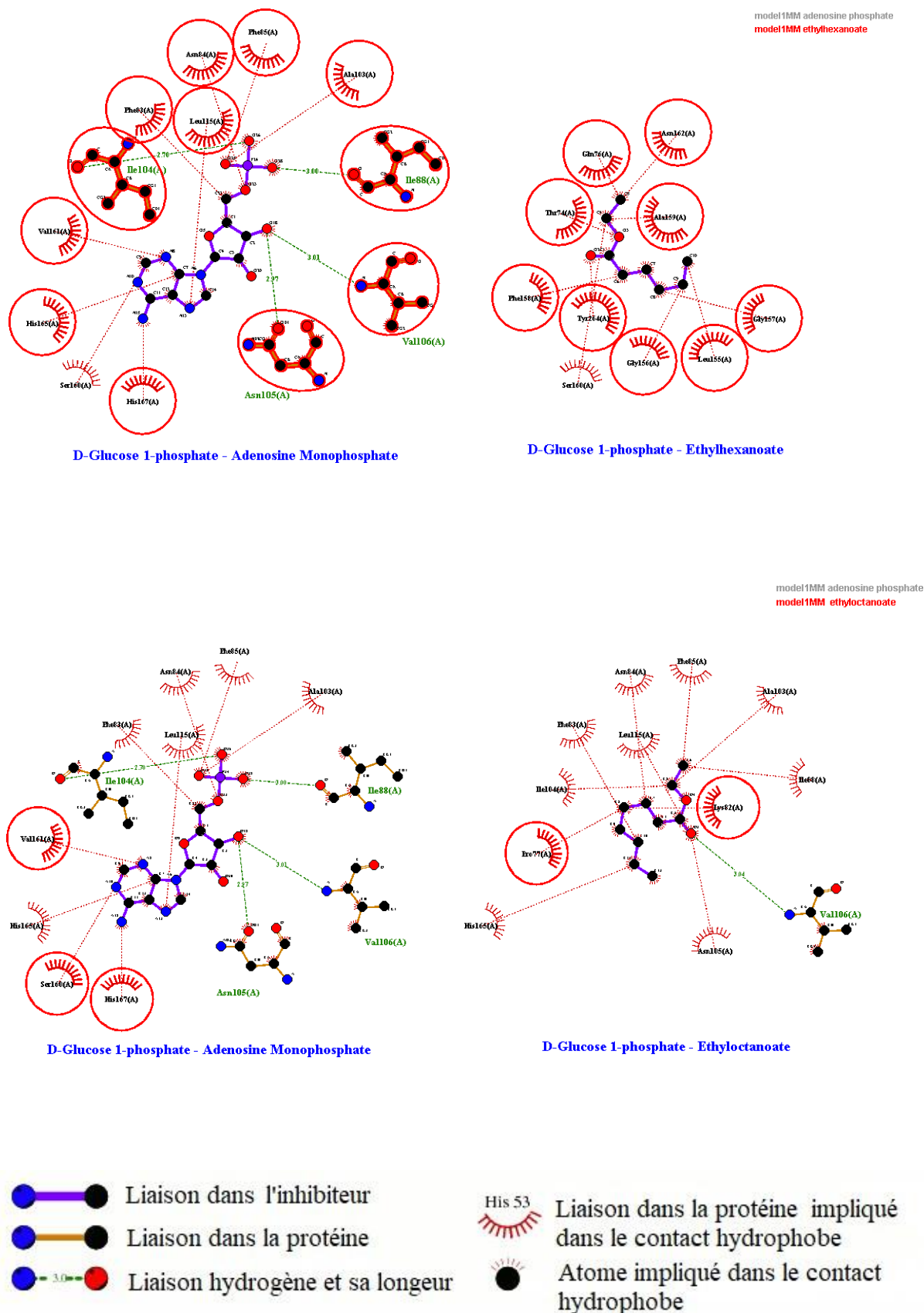
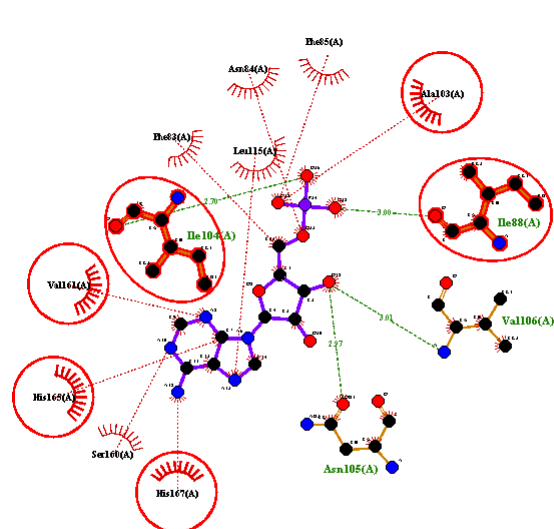
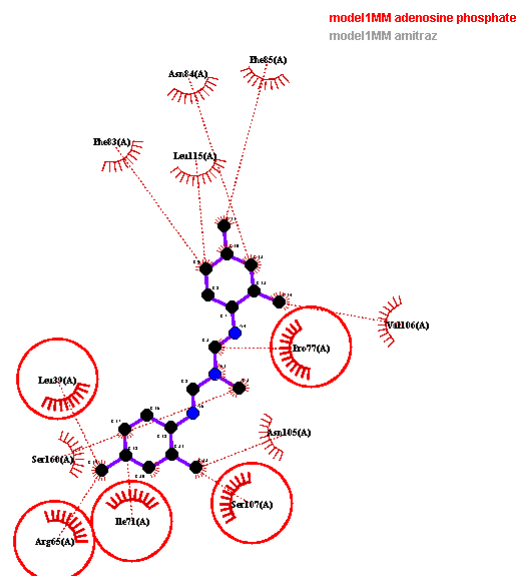


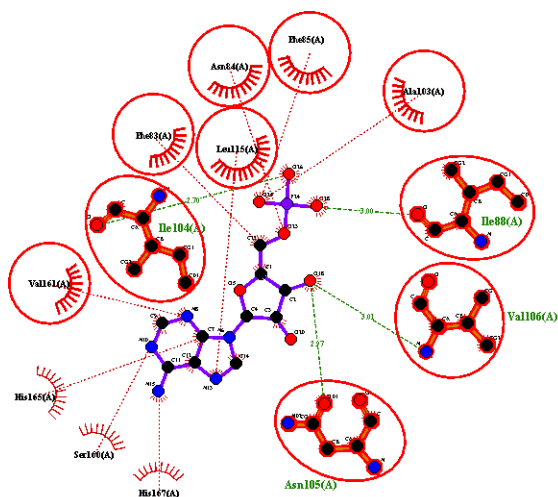
Figure 105: LigPlot+ interaction entre la protéine et les inhibiteurs naturels.



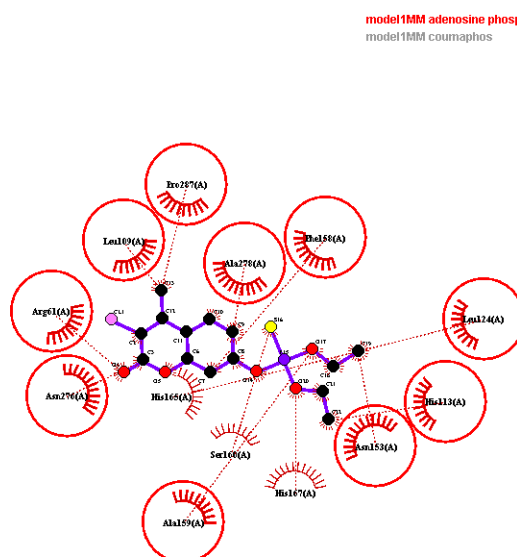
D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



D-Glucose 1-phosphate - Amitraz



D-Glucose 1-phosphate - Adenosine Monophosphate



D-Glucose 1-phosphate - Coumaphos

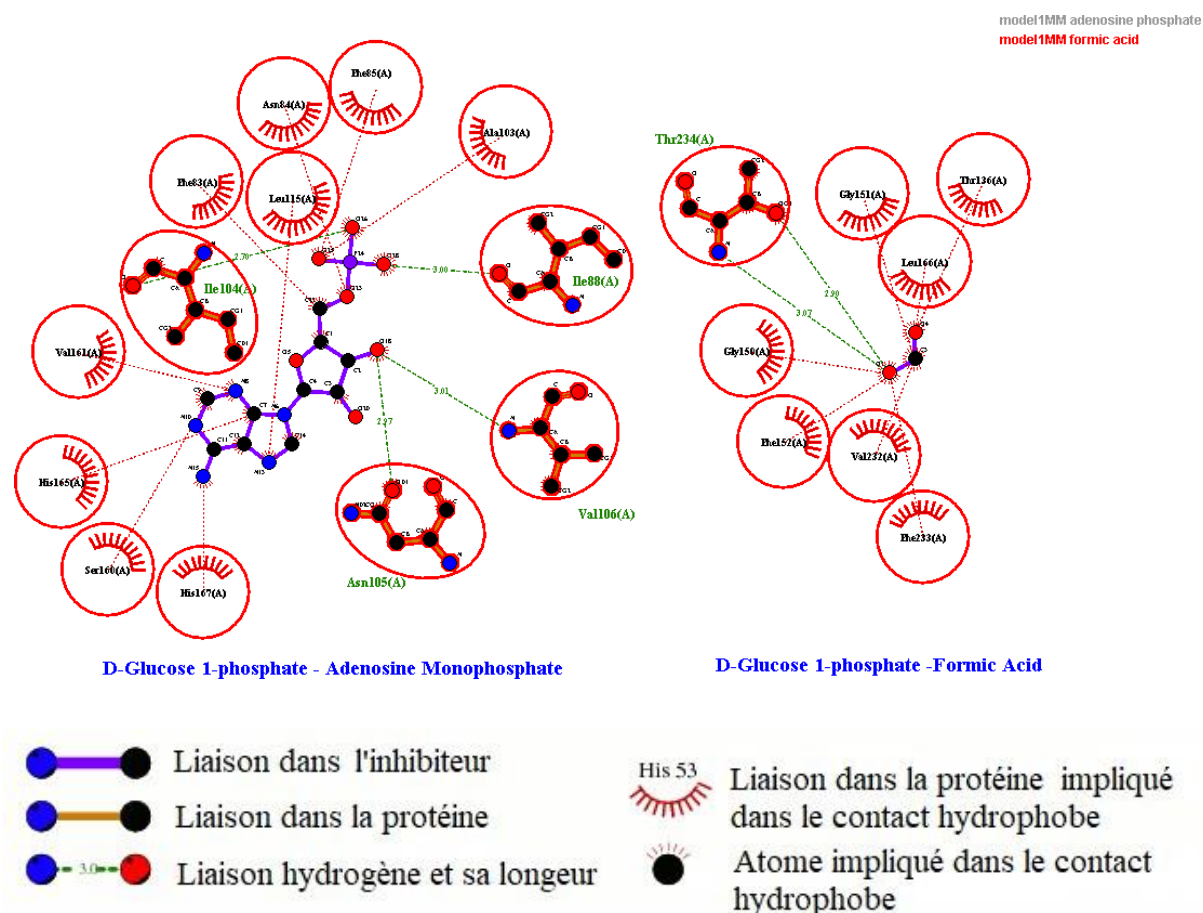


Figure 106: LigPlot+ interaction entre la protéine et les inhibiteurs synthétiques.

La carte d'interaction en 2D a été créée en utilisant le logiciel LigPlot⁺. C'est une technique courante d'infographie. Elle est largement utilisée pour démontrer les interactions entre les inhibiteurs et les protéines. Les diagrammes schématiques aident à comprendre les interactions chimiques avec les acides aminés et les processus biologiques dans lesquels les ligands sont impliqués dans les protéines (Guo et al., 2020; Pal et al., 2019).

Les ligands et les chaînes latérales de la protéine sont représentés en forme de boule et de bâton, les liaisons des inhibiteurs étant teintées de violet. Les liaisons hydrogènes sont représentées par des lignes pointillées vertes, tandis que les arcs en rayons révèlent les résidus protéiques qui établissent des contacts non liés avec l'inhibiteur. Lorsque les deux modèles structuraux sont superposés, les résidus protéiques présents dans des positions 3D équivalentes sont symbolisés par des cercles et des ellipses rouges.

La carte 2D montre la correspondance entre les interactions de liaison identifiées par le logiciel LigPlot⁺ et celles trouvées dans le complexe cristallographique.

Les interactions partagées entre la protéine D-Glucose-1-Phosphate et le ligand de référence sont différentes de celles avec nos inhibiteurs.

13. Dynamique moléculaire

Nous avons effectué des simulations classiques de dynamique moléculaire (MD) impartiales sur six complexes, dont le composé de référence (Amitraz) et cinq composés naturels, chacun pendant 100 ns, afin d'étudier leur stabilité de liaison avec la protéine correspondante.

Chaque système a été préparé à l'aide du module de création de solutions CHARMM-GUI (Brooks et al., 2009; Jo, 2014; Jo et al., 2008; Lee et al., 2016).

Les paramètres du champ de force pour les protéines, l'eau et les ions ont été obtenus à partir du champ de force CHARMM36m, tandis que les paramètres pour les petites molécules ont été générés à l'aide du champ de force général CHARMM (CGenFF).

Les simulations MD ont été réalisées à l'aide de GROMACS 2021 avec des conditions aux limites périodiques (PBC) appliquées dans les trois dimensions spatiales (Abraham et al., 2015).

La minimisation initiale de l'énergie potentielle, à l'aide de l'algorithme de descente la plus raide, a été réalisée avec un maximum de 100 000 pas et un seuil de force de 100 kJ·mol⁻¹·nm⁻¹.

Par la suite, l'équilibrage de la température a été réalisé à l'aide de l'ensemble canonique (NVT) à 310 K avec l'algorithme de rééchelle de vitesse, suivi d'un équilibrage de la pression à 1 atm à l'aide de l'ensemble isotherme-isobarique (NPT) et du barostat de Berendsen (Bussi et al., 2007).

Le cycle de production a utilisé l'ensemble NPT avec le thermostat Nose-Hoover pour maintenir 310 K et le barostat Parrinello Rahman pour maintenir 1 atm (Evans and Holian, 1985).

Les longueurs de liaison impliquant des atomes d'hydrogènes ont été contraintes à l'aide du LINear Constraint Solver (LINCS) (**Hess et al., 1998**), permettant un pas de temps de 2 fs. Les interactions électrostatiques ont été calculées à l'aide de la méthode Particle Mesh Ewald (PME) avec une coupure de 1, 2 nm.

Pendant la phase de production, les images ont été enregistrées toutes les 0,1 ns, donnant 1 000 images.

Après la simulation, les trajectoires ont été traitées pour supprimer la PBC à l'aide de la commande trjconv dans GROMACS, et une analyse plus approfondie a été effectuée à l'aide des scripts VMD TK (**Humphrey et al., 1996**).

Les analyses comprenaient le calcul de l'écart quadratique moyen (RMSD) pour les protéines (atomes C-alpha) et le ligand, la fluctuation quadratique moyenne (RMSF) pour les atomes C-alpha, la surface accessible au solvant (SASA), le rayon de giration (RoG), et des changements dans la liaison hydrogène entre le ligand et la protéine. De plus, pour évaluer la dissociation du ligand, la distance entre les centres de masse du ligand et de la protéine a été surveillée.

13.1. Calcul d'énergie libre contraignant à l'aide de MM-GBSA

Pour calculer l'énergie libre de liaison entre chaque ligand et la protéine correspondante, nous avons utilisé la méthode MM-GBSA (Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area) implémentée dans le package gmx_MMPBSA. De plus, nous avons détecté et calculé la contribution des acides aminés à moins de 1 nm de chaque ligand et ayant une contribution supérieure à -1 Kcal/mol en utilisant une analyse de décomposition (**Miller III et al., 2012; Valdés-Tresanco et al., 2021**).

Les paramètres ont été définis comme suit : la force ionique a été ajustée à 0,154 M, la technique de solvation (igb) a été réglée à 5, la constante diélectrique interne a été réglée à 1,0 et le diélectrique externe a été réglé à 78,5.

L'écart quadratique moyen (RMSD) des atomes C α de la protéine (**figure 107.A**) a été calculé pour évaluer la stabilité et la flexibilité conformationnelle de la protéine dans chaque complexe lors de simulations de dynamique moléculaire.

L'analyse RMSD révèle que le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -eudesmol présente la stabilité la plus élevée avec une moyenne de 5,54 Å par rapport au complexe Amitraz (composé de référence) qui présente une moyenne de 5,52 Å. De même, le complexe D-Glucose 1-phosphate / (E)-nérolidol présente une stabilité avec une moyenne de 5,4 Å. En revanche, les complexes D-Glucose 1-phosphate / Valérianiol, D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol et D-Glucose 1-phosphate / (E,Z)-farnesol présentent des valeurs plus élevées que l'Amitraz avec des valeurs de 6,3 Å, 6,69 Å et 7,19 Å, respectivement.

En plus du RMSD de la protéine, nous avons calculé le RMSD de chaque ligand (**figure 107.B**). Seul le composé Valérianiol s'est dissocié de la protéine, comme le montrent les valeurs RMSD. Tous les autres composés présentent des moyennes plus élevées que le composé Amitraz, le composé α -eudesmol présentant les plus petits écarts par rapport au composé de référence.

La **figure 107.C** montre le rayon de giration de la protéine dans chaque complexe. Presque tous les complexes présentent une tendance stable au cours de la durée de simulation.

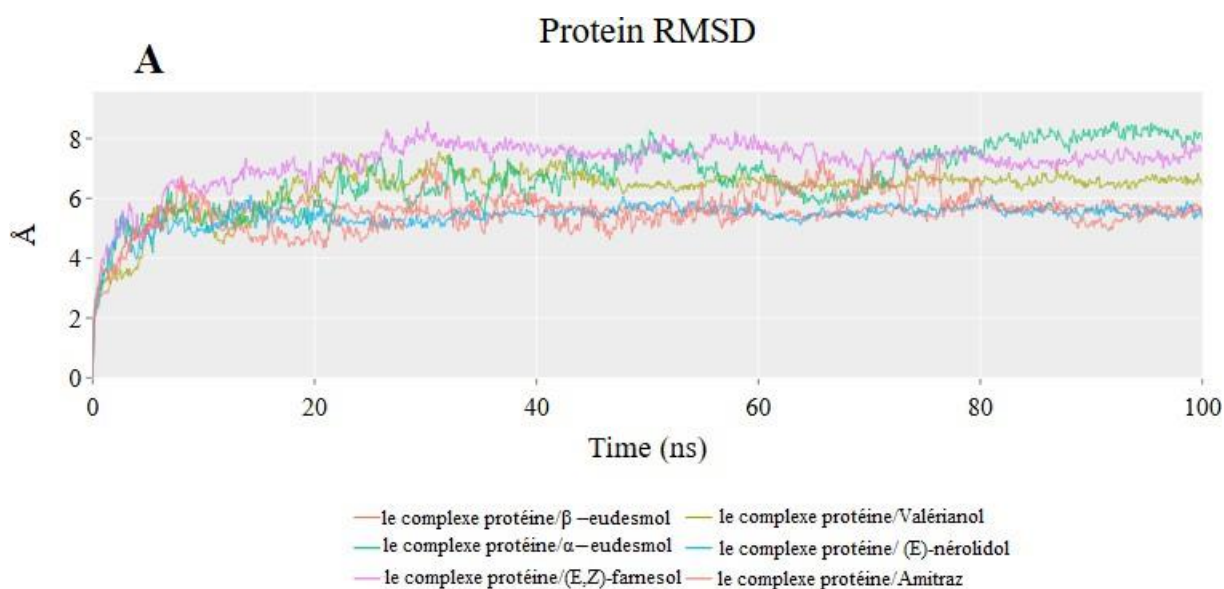
De même, les valeurs SASA (**figure 107.D**) montrent une tendance stable. Les valeurs RMSF (**figure 107.E**) montrent de fortes fluctuations dans les régions de boucle et de terminaison dépassant 2 Å, indiquant une grande flexibilité.

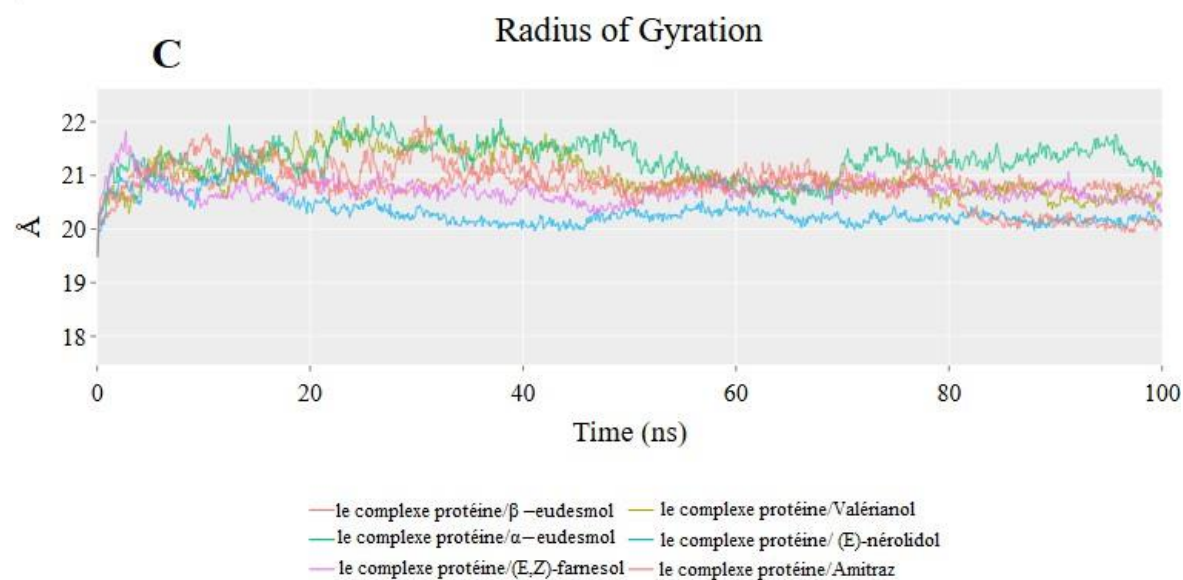
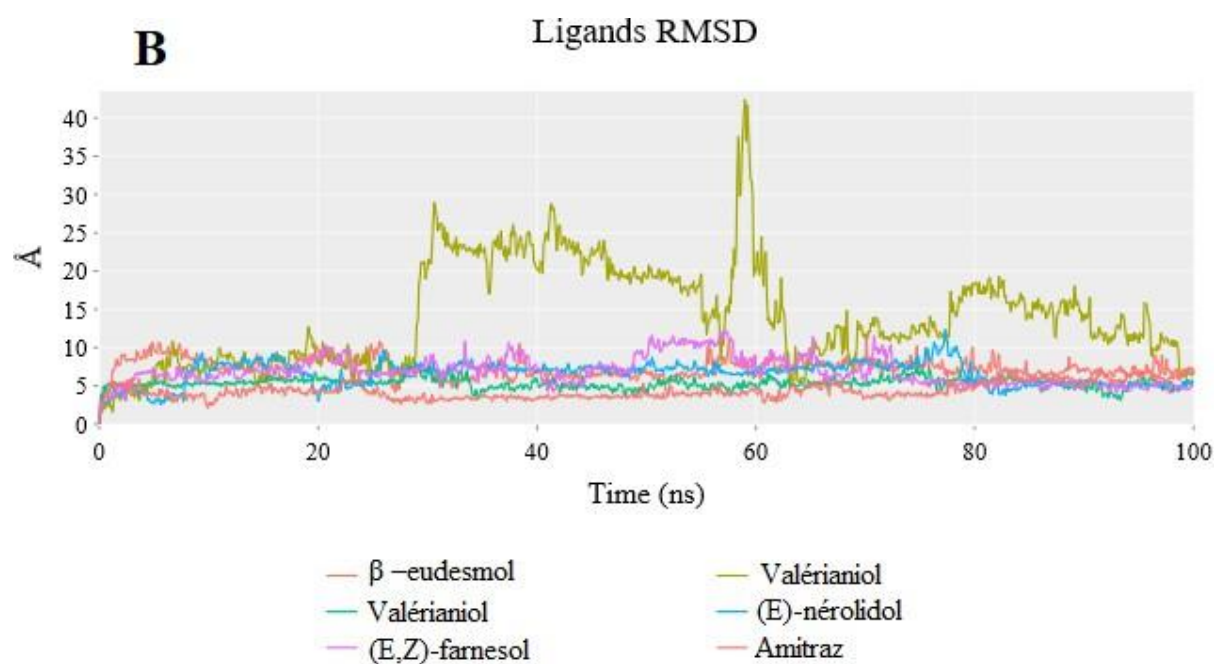
Pour savoir si le composé s'est dissocié ou est resté lié à la protéine, nous avons calculé la séparation entre chaque ligand et la protéine (**figure 107.F**). Les composés β -eudesmol, α -eudesmol, (E)-nérolidol, (E,Z)-farnesol sont restés liés à la protéine, comme le montrent leurs valeurs par rapport au composé Amitraz. En revanche, le composé Valérianiol s'est dissocié vers 60 ns.

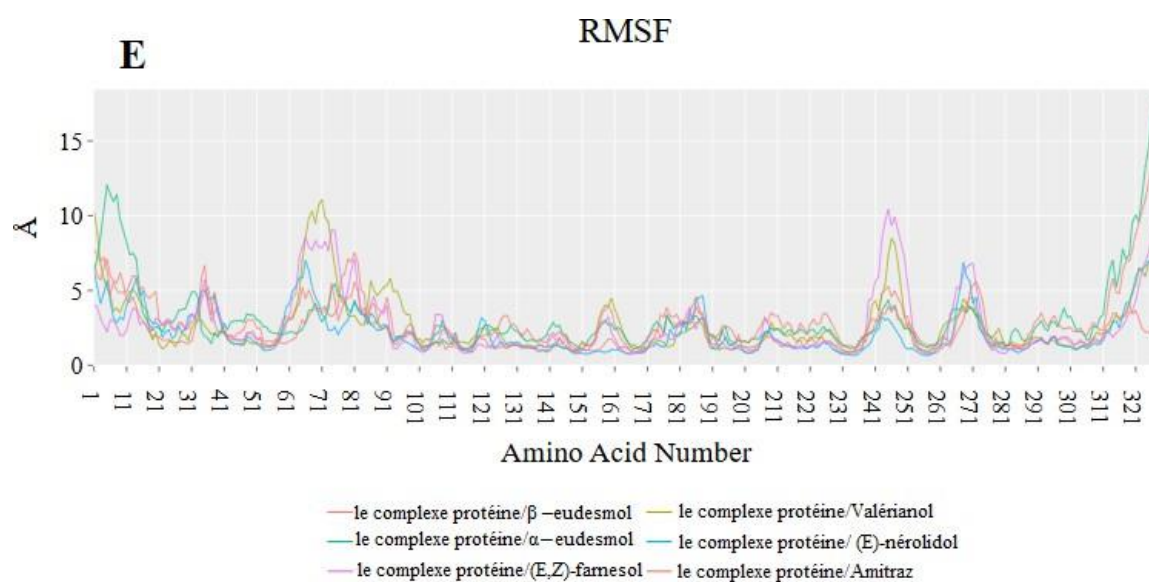
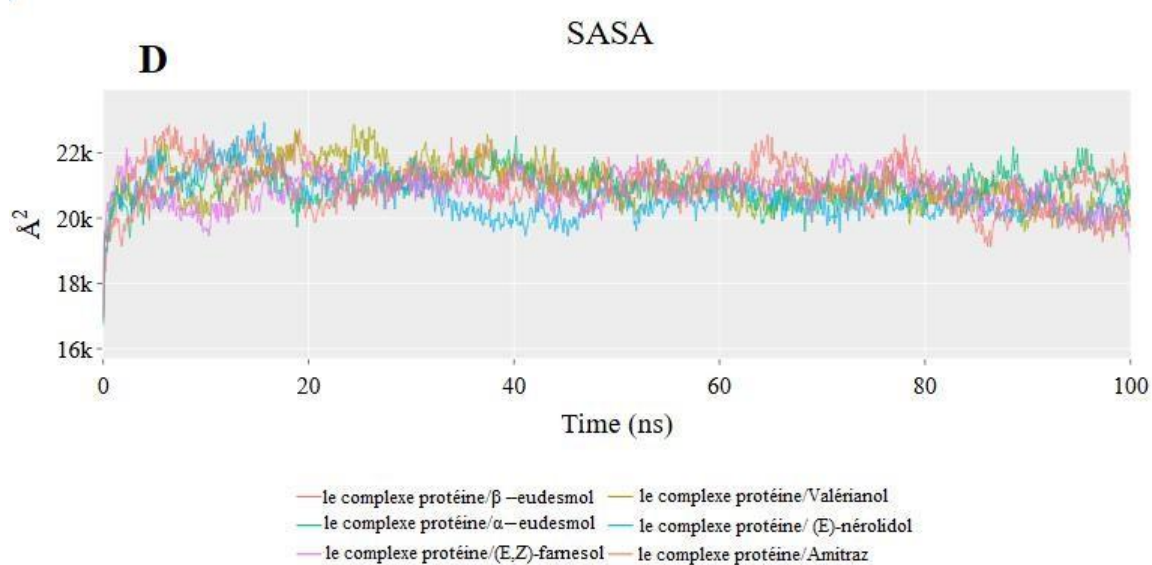
L'énergie libre de liaison a été calculée à l'aide de MM-GBSA et les résultats ont été présentés dans le **tableau 36** (les différents composants énergétiques) et le **tableau 37** (résultats de la décomposition).

Le composé Amitraz présente les interactions électrostatiques les plus élevées (-28,75 Kcal/mol) par rapport aux autres composés. D'un autre côté, le composé (E,Z)-farnesol interagit avec la protéine principalement en raison d'interactions hydrophobes. L'énergie de liaison totale pour les cinq composés est beaucoup plus élevée que celle du composé Amitraz, ce qui indique une meilleure force de liaison, le composé (E,Z)-farnesol étant le meilleur composé.

Pour savoir quels acides aminés ont le plus contribué aux interactions, nous avons effectué une analyse de décomposition (**tableau 37**). Le composé β -eudesmol présente de faibles interactions car tous les acides aminés dans un rayon de 1 nm ont une contribution inférieure à -1 Kcal/mol. Le composé Valérianiol n'a pas eu une contribution supérieure à -0,5 Kcal/mol puisqu'il a été dissocié. À partir du composé α -eudesmol, certains acides aminés dans un rayon de 1 nm ont commencé à avoir une contribution supérieure à -1 Kcal/mol. Asn105 a montré une contribution de -2,12 Kcal/mol avec le composé α -eudesmol. En revanche, le composé (E)-nérolidol contient trois acides aminés (Ile88 – Leu115 – Phe85) avec une contribution supérieure à -1 Kcal/mol. Enfin, le composé (E,Z)-farnesol présente deux acides aminés qui présentent une bonne liaison (Val161 – His163).







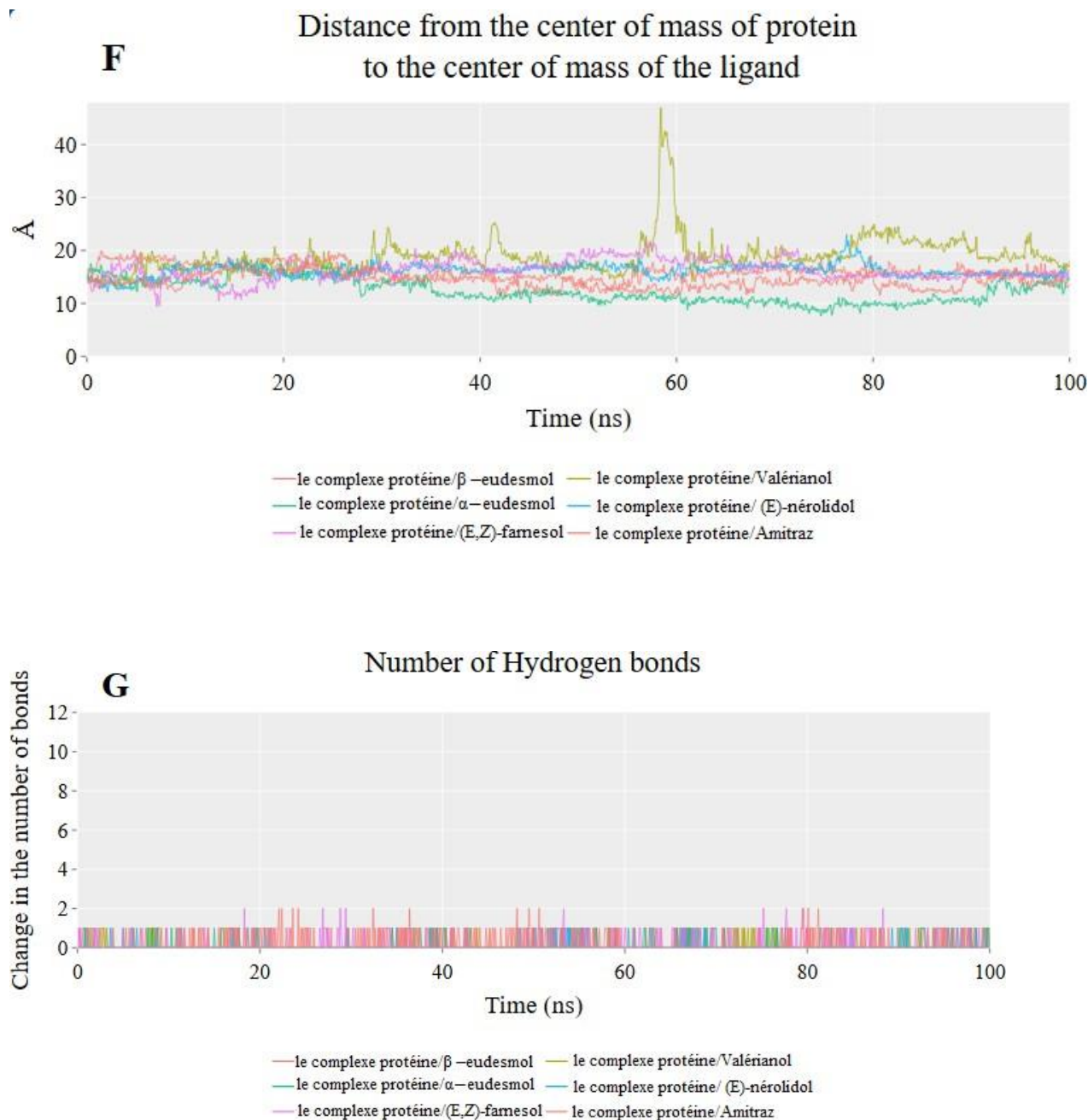


Figure 107: A) valeurs RMSD des trajectoires de la protéine dans différents complexes, B) montre les valeurs RMSD des ligands, C) rayon de giration pour la protéine dans différents complexes, D) SASA pour la protéine dans différents complexes, E) RMSF pour les atomes alpha de carbone de la protéine dans différents complexes, F) distance du centre de masse des différents ligands et de la protéine, G) nombre des liaisons hydrogènes.

Tableau 36: Différentes composantes énergétiques du MM-GBSA, leurs valeurs moyennes et écarts types. Les valeurs sont en Kcal/mol.

Systèmes	ΔV_{dwaals}	ΔE_{el}	ΔE_{gb}	ΔE_{surf}	ΔG_{gas}	ΔG_{solv}	$\Delta Total$
β –eudesmol	-25.99 $\pm$ 2.9	-3.09 $\pm$ 3.18	18.06 $\pm$ 3.65	-3.79 $\pm$ 0.37	-29.08 $\pm$ 4.82	14.27 $\pm$ 3.44	-14.81 $\pm$ 2.86
Valérianiol	-18.0 $\pm$ 5.17	-2.6 $\pm$ 3.14	12.97 $\pm$ 4.48	-2.6 $\pm$ 0.76	-20.59 $\pm$ 6.82	10.37 $\pm$ 3.91	-10.23 $\pm$ 4.07
α–eudesmol	-28.81 $\pm$ 3.23	-5.55 $\pm$ 3.99	20.87 $\pm$ 3.36	-3.88 $\pm$ 0.38	-34.36 $\pm$ 5.45	17.0 $\pm$ 3.18	-17.36 $\pm$ 4.25
(E)-nérolidol	-28.77 $\pm$ 3.56	-4.45 $\pm$ 3.43	20.29 $\pm$ 3.73	-4.49 $\pm$ 0.52	-33.22 $\pm$ 5.32	15.8 $\pm$ 3.44	-17.42 $\pm$ 3.33
(E,Z)- farnesol	-29.5 $\pm$ 4.33	-7.12 $\pm$ 6.17	21.2 $\pm$ 5.15	-4.48 $\pm$ 0.58	-36.62 $\pm$ 8.23	16.72 $\pm$ 4.84	-19.91 $\pm$ 5.46
Amitraz	-27.72 $\pm$ 3.84	-28.75 $\pm$ 14.87	52.13 $\pm$ 10.57	-4.11 $\pm$ 0.51	-56.47 $\pm$ 15.49	48.02 $\pm$ 10.25	-8.45 $\pm$ 6.58

Tableau 37: Décomposition de l'énergie libre de liaison de chaque complexe. Les acides aminés sont sélectionnés pour avoir une contribution supérieure à -0,5 Kcal/mol. Les valeurs sont en Kcal/mol.

Systèmes	Acides aminés
β – eudesmol	Phe85 (-0.93) – Ile88 (-0.9) – Val161 (-0.83) – Ala103 (-0.67) – Ile117 (-0.59) – Leu115 (-0.51)
Valérianiol	Aucun
α–eudesmol	Asn105 (-2.12) – Leu115 (-0.98) – Phe158 (-0.82) – Ala103 (-0.64) – Ile104 (-0.6)
(E)- nérolidol	Ile88 (-1.45) – Leu115 (-1.09) – Phe85 (-1.08) – Lys87 (-0.72) – Asn105 (-0.71) – Val161 (-0.58) – Ala103 (-0.58) – Ile117 (-0.54)
(E,Z)- farnesol	Val161 (-1.59) – His163 (-1.0) – Ile88 (-0.88) – Ile117 (-0.87) – Arg91 (-0.8) – Val93 (-0.64) – Ala103 (-0.61)
Amitraz	Arg61 (-3.24) – His72 (-0.98) – Arg65 (-0.86) – Cys73 (-0.76) – Val106 (-0.62) – Asn105 (-0.59) – Ser107 (-0.58)

14. Partie 02 (Belhadji et al., 2022)

1. Docking moléculaire

Nous avons effectué le docking moléculaire avec le logiciel PyRx Autodock Vina et les résultats sont présents dans le tableau ci-dessous :

Tableau 38: Résultats du docking moléculaire.

Inhibiteurs	Protéines / ligands	7AU6 (Cytochrome c oxydase)	1EEA (Acétylcholinestérase)
		Score (Kcal/mol)	
Inhibiteurs naturels	Acide oléique	-7.5	-6.8
	Acide palmitique	-6.6	-6.0
	Gamma- tocophérol	-10.4	-8.9
	Schotténol	-11.7	-11.4
	Palmito – diolène (POO)	-7.0	-7.0
Inhibiteurs chimiques	Amitraz	-10.5	-10.1
	Coumaphos	-6.1	-8.4
	Tau-fluvalinate	-11.3	-11.9

D'après les résultats obtenus, nous observons que le complexe 7AU6 / Schotténol a libéré une énergie de -11.7 Kcal/mol. Le complexe 7AU6 / Tau-fluvalinate a libéré une énergie de -11.3 Kcal/mol. Le complexe 7AU6 / Amitraz a libéré une énergie de -10.5 Kcal/mol.

Donc le complexe 7AU6 / Schotténol est le plus stable vue qu'il représente une meilleure affinité avec le niveau énergétique le plus bas par rapport aux inhibiteurs naturels extraits de l'huile essentielle de l'Arganier et même en comparant avec la valeur du score donné par les molécules chimiques.

D'autre part, le complexe 1EEA / Schotténol a libéré une énergie de -11.4 Kcal/mol. Elle est proche de l'énergie libéré par le complexe 1EAA / Tau-fluvalinate qui est de -11.9 Kcal/mol. La valeur de score du complexe 1EAA / Amitraz est -10.1 Kcal/mol.

Donc Schotténol inhibe lui aussi la protéine Acétylcholinestérase.

La figure ci-dessous représente la pose de la molécule Schotténol dans la cavité enzymatique de chaque un des deux protéines :

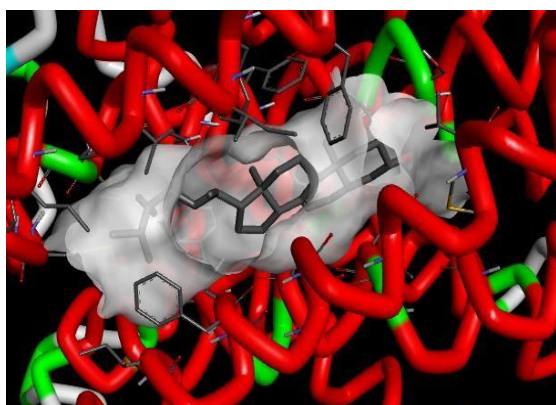


Figure 108: Le complexe 7AU6 / Schotténol.

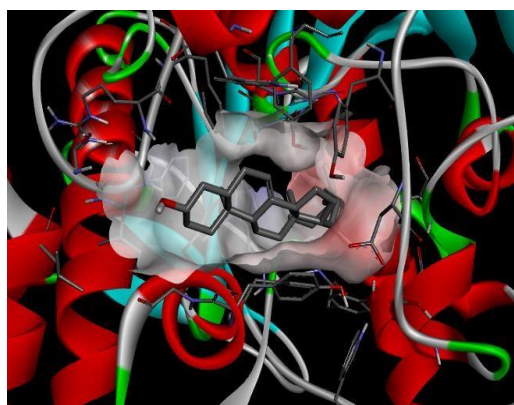


Figure 109: Le complexe 1EEA / Schotténol.

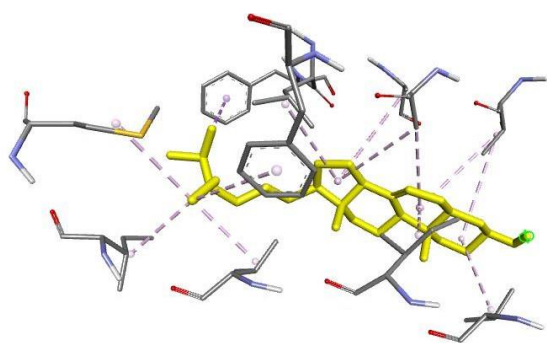


Figure 110 : Interactions 7AU6 / Schotténol.

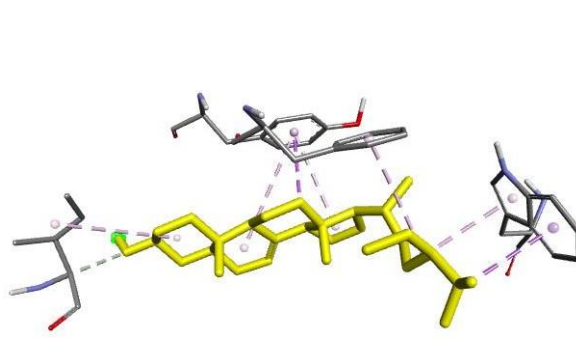


Figure 111 : Interactions 1EEA / Schotténol.

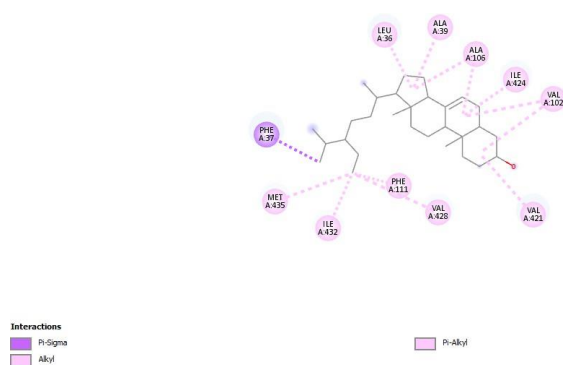


Figure 112 : Interaction chimique 2D entre 7AU6 / Schotténol.

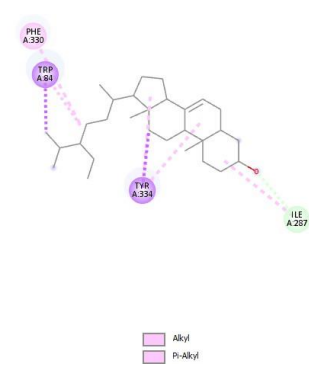


Figure 113 : Interaction chimique 2D entre 1EEA / Schotténol.

Les résultats de visualisation des interactions avec le logiciel BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 montrent :

Schotténol a formé une liaison hydrogène avec la protéine Acétylcholinestérase sous le code 1EEA dans le résidu ILE 287 ; et la formation de liaisons : Pi-sigma, Alkyl et Pi-Alkyl.

Schotténol a formé des liaisons Pi-sigma, Alkyl et Pi-Alkyl avec la protéine Cytochrome c oxydase sous le code pdb 7AU6.

2. Dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire a été réalisée sur le top inhibiteur (Schotténol) qui contient des liaisons à haute énergie.

Les changements de conformation par rapport à la structure originale ont été montrés par RMSD.

La stabilité structurale, la mobilité atomique et les résidus de flexibilité au moment de l'interaction protéine / ligand ont été exprimés par des valeurs de fluctuation quadratique moyenne (RMSF).

Les valeurs RMSD du complexe protéine / ligand sont présentées dans la **figure 114**.

Le RMSD du complexe a montré un écart d'environ 2 Å jusqu'à 15 ns, puis il n'y a pas eu de fluctuation significative et la simulation a convergé. Il indique la stabilité du complexe protéine / ligand (**figure 115**). Pour RMSF, il y a eu une fluctuation d'environ 3 de GLU 68 à

CYS 80, et la structure restante était stable comparativement et il n'y avait pas beaucoup de fluctuation.

Le ligand complexe 7AU6 / Schottenol a établi des contacts avec la protéine (**Figure 116**). Le ligand a montré des interactions intermoléculaires de types différents au cours de la simulation, y compris les liaisons hydrogènes, les ponts ioniques, les ponts d'eau et hydrophobes. Les résidus participant à ces interactions comprennent les PHE 18, ILE 33, LEU 36, PHE 37, SER 46, VAL 47, THR 50, HIS 94, MET 98, VAL 102, ALA 106, PHE 111, MET 416, SER 417, VAL 421, ILE 424, PHE 425, VAL 428, ILE 432, MET 435, MET 452, SER 496, PHE 500, PHE 503, VAL 508, and LEU 511 (**figure 116**).

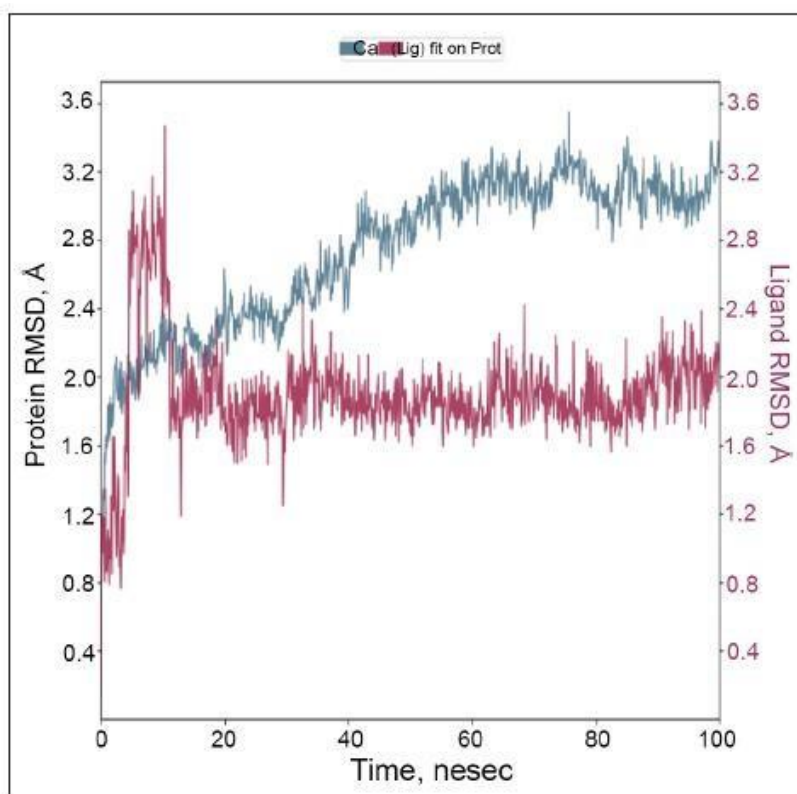


Figure 114 : Diagramme RMSD du complexe protéine / ligand.

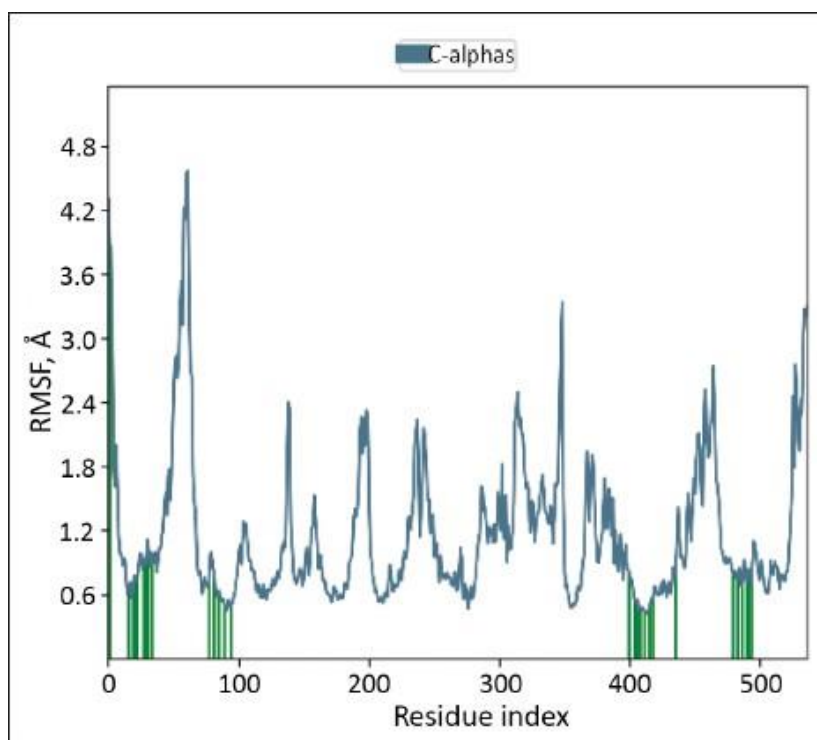


Figure 115 : Courbe RMSF du complexe protéine / ligand.

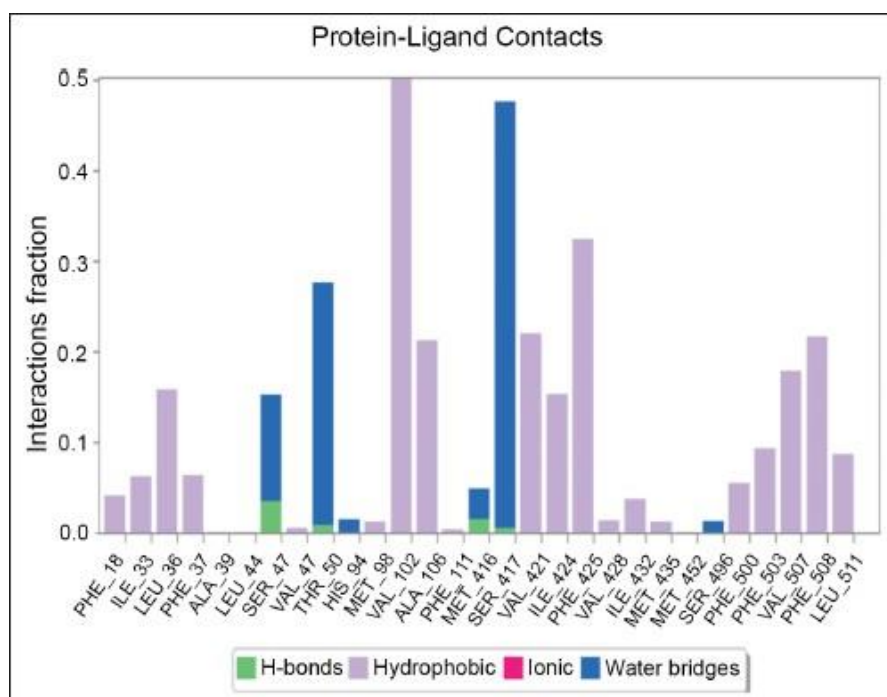


Figure 116 : Contacts protéine / ligand.

15. Conclusion

Les principaux résultats sont les suivants :

- ✓ L'alignement de la protéine D-Glucose 1-phosphate du parasite *Varroa destructor* a montré une ressemblance de 100 % avec l'espèce *Varroa jacobsoni*. Ces résultats indiquent que l'inhibition de la protéine n'affectera ni l'homme ni les abeilles dans les ruches.
- ✓ La totalité des molécules naturels des plantes de la famille des Rutacées que nous avons proposé dans notre étude sont en accord avec l'analyse ADME donc elles peuvent être utilisées en toute sécurité.
- ✓ Les résultats du docking moléculaire diffèrent entre les complexes. Alismol, Germacrène D, Guaiol ont donné la meilleure valeur d'énergie de liaison qui est à -7.1 Kcal/mol. α -amorphène et β -eudesmol ont donné un très bon résultat qui est de -6.9 Kcal/mol. Bicyclogermacrène, Germacrène B, Valerianol, ont donné un score de -6.8 Kcal/mol. α -eudesmol, β -élémane, δ -élémane, γ -eudesmol, ont donné une énergie de liaison de -6.7 Kcal/mol. Transcaryophyllène, a donné un score de -6.6 Kcal/mol et β -élemol de -6.2 Kcal/mol.
- ✓ Les interactions chimiques 2D entre la protéine D-Glucose 1-phosphate et les inhibiteurs sont analysées.
- ✓ Les résultats montrent 2 liaisons hydrogènes avec α -eudesmol, (E,Z)-farnesol, Ethylhexanoate, Ethyloctanoate; et 1 liaison hydrogène avec β -eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol, Linalool, Géraniol, 2-Undécanol, 1-Dodécanol. Cela indique que l'interaction entre chaque inhibiteur et la protéine est très forte.

- ✓ Les interactions hydrophobes sont différentes dans la totalité des complexes. Les régions hydrophobes sont élevées dans les complexes protéine / inhibiteurs naturels. Cela signifie que les caractères normaux de l'enzyme sont modifiés.
- ✓ Les interactions d'ionisabilité sont analysées pour chaque complexe après le docking moléculaire.
- ✓ On a généré des cartes interactives en 2D afin de mettre en évidence les interactions entre chaque complexe ligand / protéine.
- ✓ La stabilité et la flexibilité conformationnelle des principes actifs des huiles essentielles *Fortunella* est validée par la simulation de la dynamique moléculaire.
- ✓ Les calculs de docking et de dynamique moléculaire peuvent élire l'huile de l'Arganier comme traitement contre le *Varroa destructor* ; de ce fait il est nécessaire de mettre place à une application sur terrain.

2. Sur terrain

1. Protocole 01

Après avoir appliqué notre traitement nous avons obtenus les résultats suivants :

1.1. Station 01

Nous sommes revenus sur terrain pour faire une visite et noter les résultats obtenus après une semaine du traitement.

Les batônnets ont été encore à leur place. L'activité des abeilles a été normale. Nous avons compté deux à trois Varroas seulement au fond de la ruche. Les abeilles ont abîmé le papier blanc.

1.2. Station 02

Nous avons fait une visite sur terrain quatre jours après le traitement. L'activité des abeilles a été normale mais elles ont fait sorti les batônnets en dehors des cadres. Nous avons marqué deux à trois Varroas morts. La feuille blanche a été presque complètement abîmée.

1.3. Station 03

Nous avons fait une visite sur terrain trois jours après le traitement. L'activité des abeilles a été normale. Nous avons compté un à deux Varroas seulement au fond de la ruche. Les abeilles ont commencé à abîmer le papier blanc.

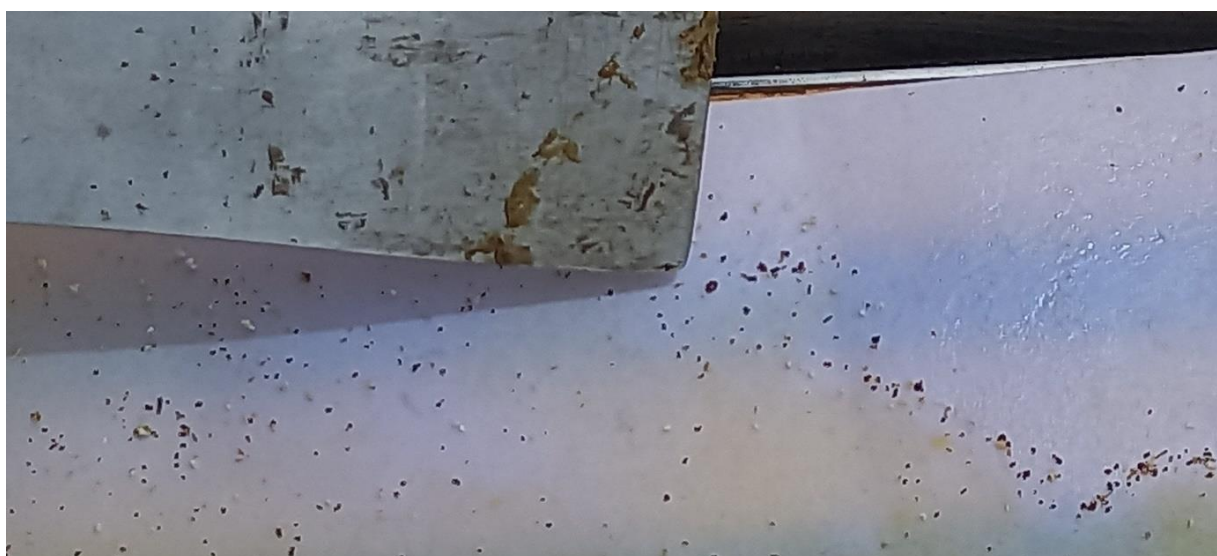


Figure 117 : Résultats obtenus avec le protocole 01.

2. Protocole 02

2.1. Au niveau du laboratoire

2.1.1. Expérience 01

Abeilles infestées

Nous avons pris cinq abeilles infestées (donc 5 Varroas) par tube. Nous avons mis 1 ml d'acétone et 9 μ L de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

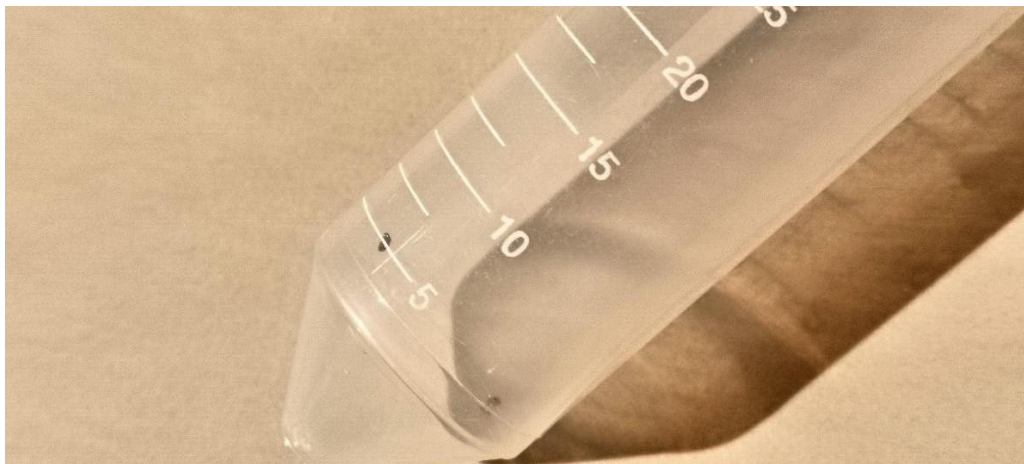
Après 5 secondes, nous avons noté le détachement et la mortalité immédiate de deux Varroas.

Les 5 secondes d'après, nous avons noté le détachement et la mortalité d'un Varroa.

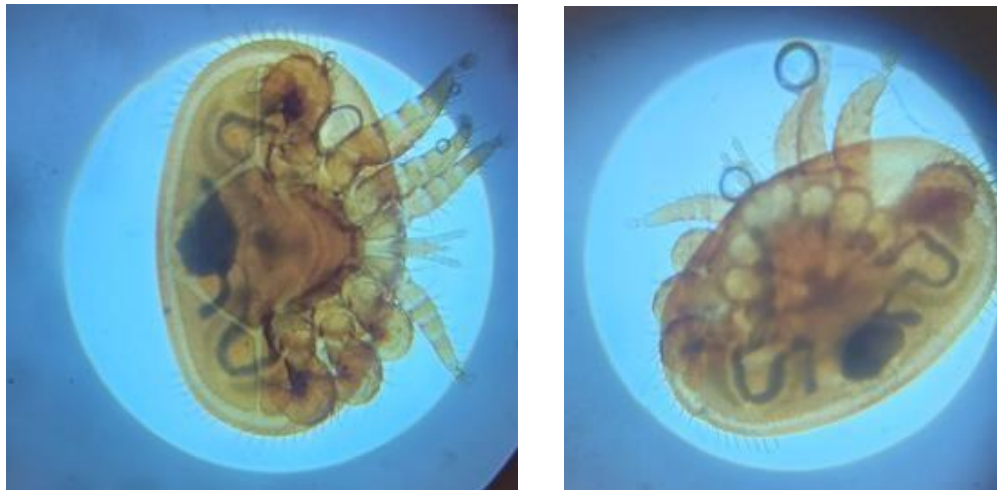
Après un moment, nous avons observé le quatrième Varroa encore collé sur l'abdomen d'une abeille mais il n'a montré aucun signe vie.

Après un petit moment nous avons noté la diminution de l'activité des abeilles et leur mortalité.

Ensuite, nous avons remarqué un Varroa caché sur l'aile de l'abeille mais il n'a montré aucun signe de vie après le traitement.



Varroas morts après application de l'huile essentielle.



Vue microscopique dorsale (à droite) et ventrale (à gauche) du parasite.



Acarien qui a essayé de s'échapper ; il n'a montré aucun signe de vie et il est resté accroché.



Ectoparasite caché sur l'aile de l'abeille mais il n'a montré aucun signe de vie après le traitement.

Figure 118 : Résultats de la première expérience au laboratoire.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau.

Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 9 μ L de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations au fil du temps.

Nous avons noté une agitation des abeilles après la diminution de leurs activités.

Ensuite, nous avons noté la mortalité de quatre abeilles et il y'a eu la cinquième qui a résisté plus.

2.1.2. Expérience 02

Abeilles infestées

Nous avons pris cinq abeilles infestées (donc 5 Varroas) par tube. Nous avons mis 1 ml d'acétone et 4.5 μ L de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

Après 30 secondes, nous avons observé le détachement des Varroas mais encore vivants. Ils se sont déplacés dans le tube.

Après 5 minutes, nous avons noté aucun mouvement et signe de vie des Varroas.

Après 25 minutes, nous avons noté la mortalité d'une abeille.

Après 35 minutes, nous avons noté la mortalité d'une deuxième abeille.

48 heures après et les trois autres abeilles ont été encore vivantes.



Figure 119 : Résultats de la deuxième expérience au laboratoire.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau. Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 4.5 μ L de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations au fil du temps.

Nous avons noté une activité normale des abeilles mais nous avons noté ainsi leur agitation dans des moments ce qui est normal du fait qu'elles ne se retrouvent pas dans leur milieu naturel.

Après 5 heures nous avons remarqué la diminution de l'activité de deux abeilles puis leur mort.

Après, nous avons observé la diminution de l'activité des abeilles restantes au fil du temps jusqu'à leur mort. Elles ont résisté pendant 10 jours.



Figure 120 : Abeilles témoins.

2.1.3. Expérience 03

Abeilles infestées

Nous avons mis cinq abeilles infestées (donc 5 Varroas) dans un tube.

Ensuite, nous avons mis 1 ml d'acétone et 3.5 μ L de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

Après 5 secondes, nous avons noté le détachement des cinq Varroas vivants et leur déplacement dans le tube.

Nous avons noté la mortalité d'un Varroa après 3 minutes top chrono ; trois Varroas morts après 6 minutes et le dernier Varroa après 9 minutes.

15 minutes après, nous avons marqué la mortalité d'une abeille et les autres ont resté résistantes.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau. Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 4.5 μ L de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations au fil du temps.

Les abeilles ont résisté pendant un très bon moment malgré leur présence dans un tube loin de leur milieu naturel.

2.1.4. Expérience 04

Nous avons mis cinq abeilles infestées (donc 5 Varroas) dans un tube.

Ensuite, nous avons mis 1 ml d'acétone et 3 μ L de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

Après 10 secondes, nous avons observé le détachement des Varroas et leur déplacement dans le tube.

Après 15 minutes, nous avons noté la mortalité de deux Varroas.

Après 30 minutes, il y'a eu la mortalité de deux Varroas.

Au bout de 45 minutes nous avons remarqué la diminution de l'activité de Varroa mais pas sa mortalité.

Nous avons dénombré une abeille morte.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau.

Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 3 μL de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations.

Nous avons noté la résistance des abeilles ; agitation au début et une diminution quand même de leur activité.

2.1.5. Expérience 05

Abeilles infestées

Nous avons mis cinq autres abeilles infestées (donc 5 Varroas) dans le tube. Nous avons mis 1 ml d'acétone et 2.75 μL de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

Après 30 secondes nous avons noté le détachement et le mouvement de trois Varroa dans le tube.

5 min après, le quatrième Varroa s'est détaché.

6 min après, le cinquième Varroa s'est détaché.

Nous avons marqué la mortalité de deux Varroas après 11 minutes top chrono.

15 minutes après, il y'avait la mortalité un Varroa.

Le quatrième Varroa est mort après 45 minutes.

Après 23 minutes, nous avons observé le déplacement d'un Varroa sur le dos de

l'abeille. Nous avons noté la mortalité d'aucune abeille par la suite.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau.

Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 2.75 μL de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations.

Nous avons noté la résistance des abeilles.

2.1.6. Expérience 06

Nous avons pris cinq autres abeilles infestées (donc 5 Varroas) par tube. Nous avons mis 1 ml d'acétone et 2.25 μL de l'huile essentielle et nous avons lancé le chronomètre.

Après 30 secondes nous avons noté le détachement et le mouvement d'un Varroa dans le tube.

Après 23 minutes, nous avons observé le déplacement d'un varroa sur le dos de l'abeille.

Après 1 heure 30 minutes, nous avons vu le détachement, le déplacement d'un Varroa dans le tube puis il s'est réaccrocher sur le dos de l'abeille.

Après un moment nous avons noté aucun signe de vie de Varroa.

Cas témoin

Nous avons mis dans un tube cinq abeilles non infestées. Nous avons mis une pâte à sucre et une éponge humide avec de l'eau.

Ensuite nous avons ajouté 1 ml d'acétone et 2.25 μL de l'huile essentielle et nous avons noté nos observations au fil du temps.

Nous avons noté une activité normale des abeilles mais nous avons noté ainsi leur agitation dans des moments.

Nous avons observé la diminution de l'activité des abeilles au fil du temps jusqu'à leur mort. Elles ont résisté pendant environ deux semaines.

Les tableaux ci-dessous représentent les résultats de notre traitement avec l'huile essentielle *Fortunella* et leur effet sur les abeilles et sur le parasite *Varroa destructor*.

Tableau 39: Résultats du traitement d'huile essentielle de *Fortunella* contre le *Varroa destructor*.

Dose d'acétone (ml)	Dose d'huile essentielle (µL)	Nombre total de Varroas	Nombre de Varroas morts
1	9	5	5
1	4.5	5	5
1	3.5	5	5
1	3	5	4
1	2.75	5	4
1	2.25	5	1

Nous avons testé le pouvoir bioacaricide de l'huile essentielle *Fortunella* pour lutter contre le *Varroa destructor* au niveau du laboratoire pour confirmer les calculs in silico et trouver la dose adéquate.

Les résultats présentes dans le tableau montrent que :

Les doses 9, 4.5 et 3.5 µL d'huile essentielle ont été très efficace contre le parasite ; la totalité des Varroas ont été morts.

La dose 2.75 µL d'huile essentielle a été efficace contre le parasite.

La dose 2.25 µL d'huile essentielle n'a été pas efficace. Un seul Varroa qui s'est détaché et qui a été mort.

Tableau 40: Effet de l'application d'huile essentielle *Fortunella* sur les abeilles.

Dose d'acétone (ml)	Dose d'huile essentielle (μ L)	Nombre total d'abeilles	Nombre d'abeilles infestées mortes	Nombre d'abeilles témoins non infestées
1	9	5	5	4
1	4.5	5	2	2
1	3.5	5	1	0
1	3	5	1	0
1	2.75	5	0	0
1	2.25	5	0	0

Le tableau montre l'effet de l'huile essentielle sur les abeilles.

La totalité des abeilles a été morte lorsque nous avons appliqué une dose de 9 μ L d'huile essentielle. 4 abeilles témoins ont été mortes.

Deux abeilles infestées et témoins ont été mortes lorsque nous avons appliqué une dose de 4.5 μ L d'huile essentielle.

Une abeille infestée est morte lors de l'application des deux doses 3.75 et 3 μ L. Toutes les abeilles témoins ont résisté.

Aucune abeilles infestées et témoins ont été mortes lors de l'application des doses 2.75 et 2.25 μ L.

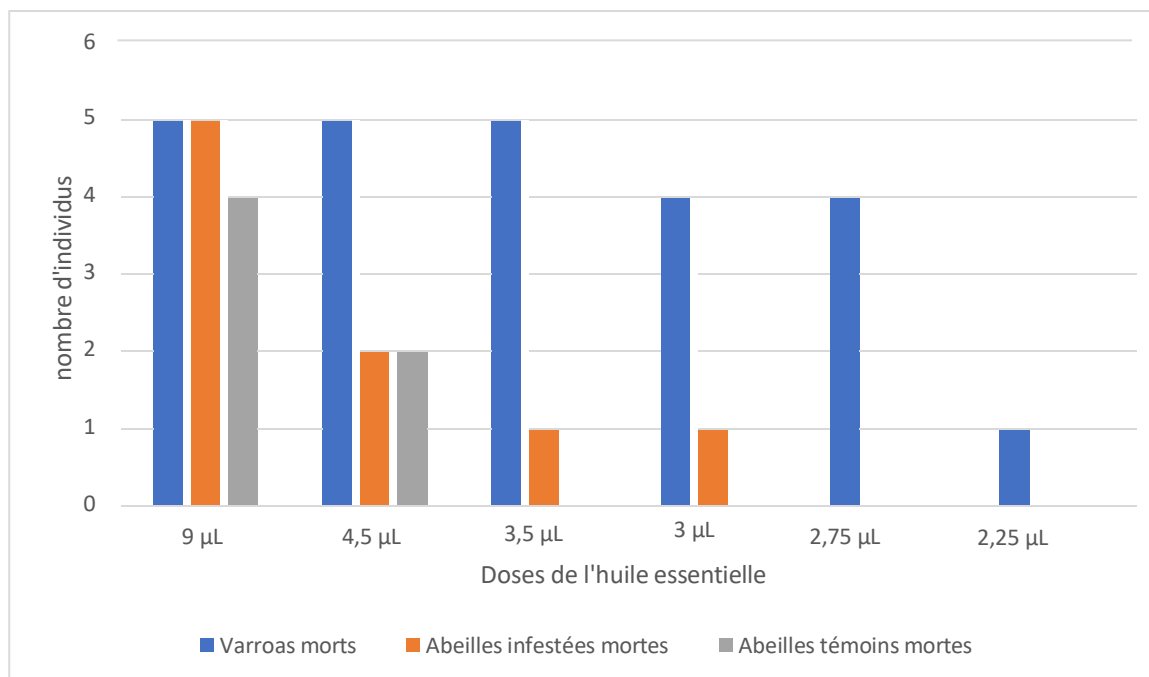


Figure 121 : Histogramme présentant les résultats du traitement.

2.2. Application du traitement dans la ruche

Cas témoin

Nous avons placé un plateau sous la ruche (**figure 122**) et nous l'avons maintenu en place pendant une durée de 6 jours.

Nous sommes retournés sur place après 6 jours et avons constaté la présence des débris des abeilles; et nous avons compté 30 Varroas morts. Ils sont tombés de manière naturelle (**figure 123**).



Figure 122 : Plateau que nous avons placé sous la caisse.

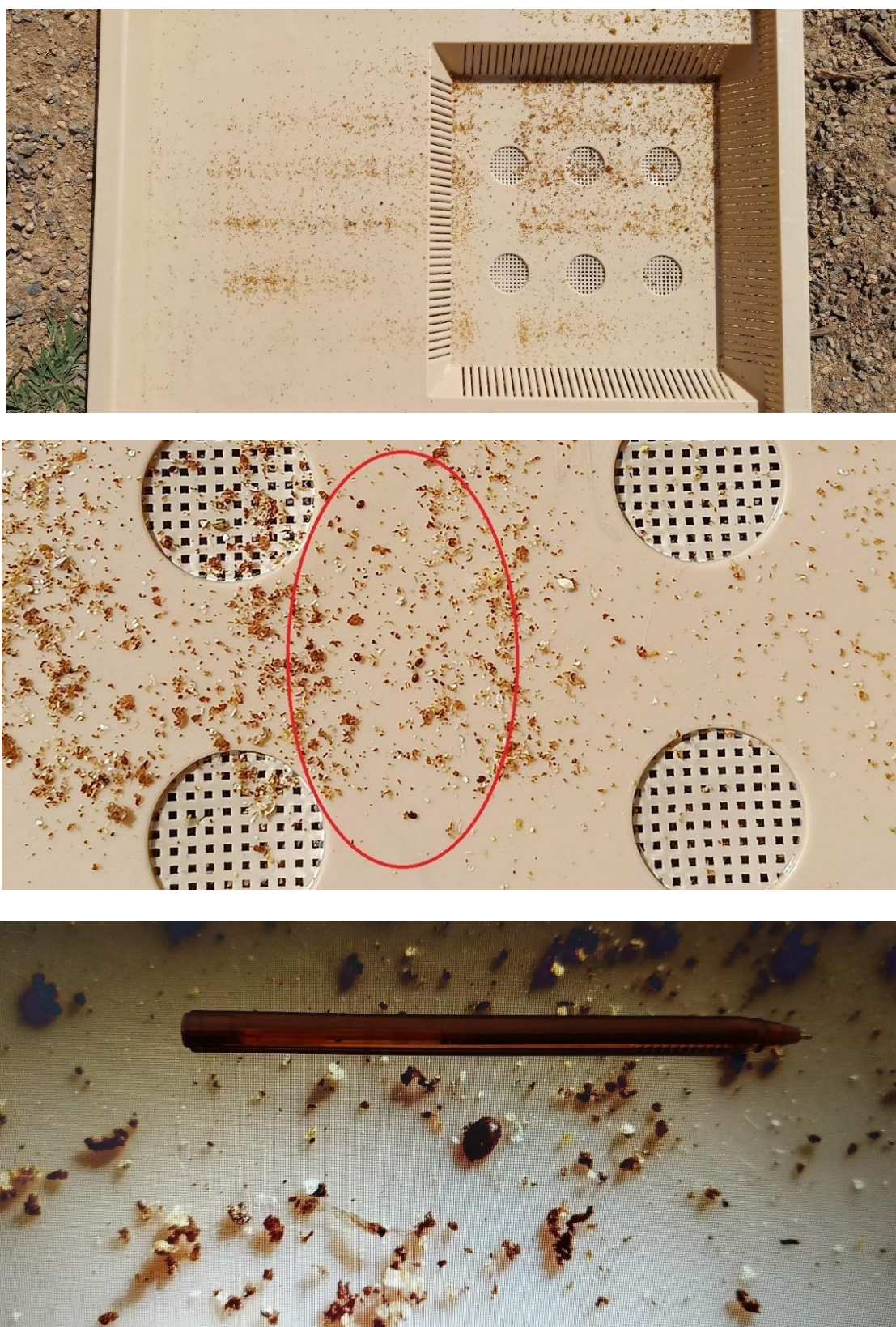


Figure 123 : Varroas morts et tombés naturellement + les débris des abeilles.

Notre expérience

Le cadre Langstroth peut contenir environ 800 abeilles par face.

Au cours de l'expérimentation au laboratoire, nous avons déterminé que la dose minimale efficace d'huile essentielle *Fortunella* pour 5 abeilles infestées est de 2.75 µL.

Donc nous avons placé 6 bâtonnets entre les cadres de la ruche. Nous avons ciblé les cadres à couvain qui ont été encore au début de développement. Dans chaque bâtonnet nous avons mis 1 ml d'huile essentielle.

Nous avons procédé à un suivi quotidien (toutes les 24 heures) sur une période de 6 jours.

Les résultats de suivi sont présents dans le tableau ci-dessous :

Tableau 41 : Nombre de Varroas morts après l'application de notre traitement.

Jours	Nombres de Varroas morts
Jour n° 01	8
Jour n° 02	7
Jour n° 03	10
Jour n° 04	24
Jour n° 05	10
Jour n° 06	24

Les résultats montrent que sur une période de 6 jours, 30 Varroas sont morts naturellement et que 83 Varroas sont morts après le placement des bâtonnets diffuseurs imbibés d'huile essentielle.

Une fois ces résultats obtenus, nous avons décidé de laisser les bâtonnets en place encore 6 jours supplémentaires.

Nous avons constaté dans le plateau la présence : des débris des abeilles, du sucre, du pollen, des fourmis, des insectes, et nous avons compté environ 160 Varroas morts (**figure 125**).

Les bâtonnets étaient encore à leurs places (**figure 124**). L'activité des abeilles était normale ; nous n'avons pas remarqué une agitation ou une agressivité ni une mortalité des individus d'abeilles.



Figure 124 : Bâtonnets d'huile essentielle entre les cadres de la ruche.

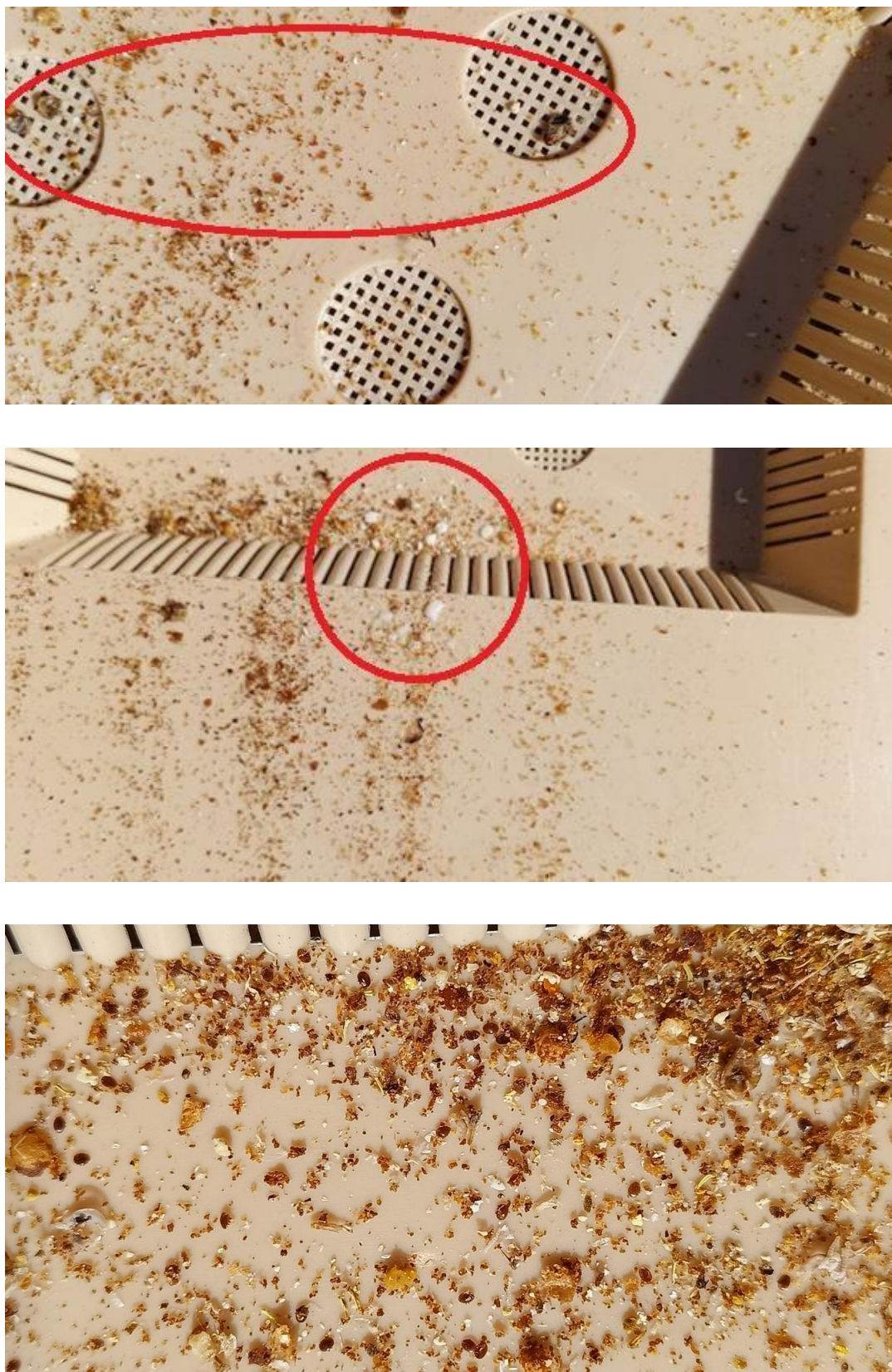


Figure 125 : Débris + sucre + insectes + Varroas morts.

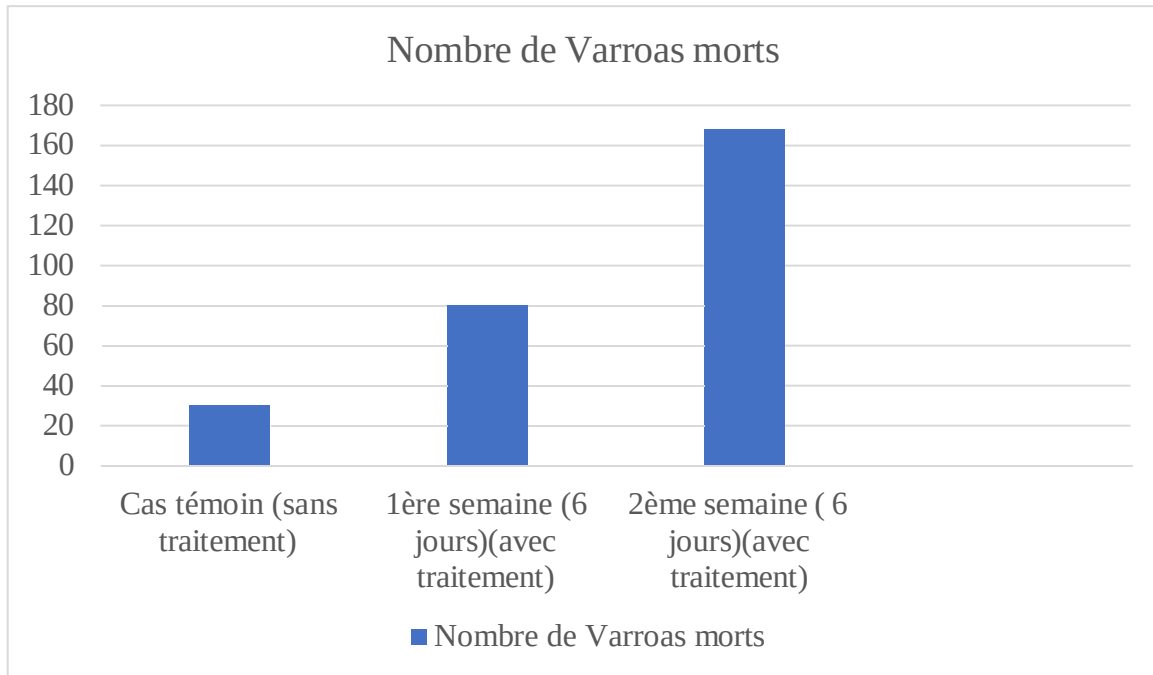


Figure 126 : Histogramme présentant l'efficacité de l'huile essentielle *Fortunella* pour le contrôle du *Varroas destructor*.

Au cours de l'observation, une évolution significative de la mortalité des Varroas a été constatée sur trois semaines.

La première semaine, correspondant au cas témoin, a enregistré 30 Varroas morts, représentant le taux de mortalité naturelle sans intervention.

La deuxième semaine, après l'application de notre traitement, une hausse notable a été observée avec 83 Varroas morts, indiquant une augmentation progressive de la mortalité.

Enfin, la troisième semaine a marqué un pic avec 160 Varroas morts, confirmant une tendance à la hausse.

Cette évolution suggère l'efficacité de l'huile essentielle *Fortunella* conduisant à une mortalité accrue des parasites.

3. Conclusion

Protocole 01

Après le premier essai sur terrain nous pouvons dire :

- ✓ Mettre une feuille blanche avec de la vaseline au fond de la ruche n'est pas une très bonne idée.
- ✓ Utiliser des lanières au lieu des bâtonnets parce que les abeilles ne peuvent pas les faire ressortir de la ruche.
- ✓ Il est primordial de commencer par des essais au niveau du laboratoire pour fixer les doses et les quantités adéquates du traitement.

Protocole 02

Nous avons testé le pouvoir bioacaricide de l'huile essentielle *Fortunella* pour le contrôle de *Varroa destructor* au niveau de laboratoire et sur terrain :

Les principaux résultats obtenus sont les suivants :

- ✓ La dose 2.75 μL représente la valeur minimale efficace contre l'acarien ectoparasite.
- ✓ La dose 3 μL représente la valeur maximale sans effet sur l'abeille domestique.
- ✓ Toutes les doses testées ont assuré le détachement du parasite de son hôte sans pouvoir de réaccrocher de nouveau malgré leur présence dans un petit tube.
- ✓ Il est nécessaire de noter que l'agitation et/ou la diminution de l'activité des abeilles est normale vu leur présence dans un micro-environnement loin de leur milieu naturel.
- ✓ En observant durant 3 semaines le nombre de Varroas morts naturellement et après l'application de notre traitement ; nous avons prouvé les résultats des calculs in silico et les expériences que nous avons effectué au niveau du laboratoire donc nous avons prouvé l'efficacité et le pouvoir bio-acaricide de notre traitement naturel.

II. Discussion

Les abeilles sont une ressource fantastique dans notre monde. Elles maintiennent l'écosystème et la biodiversité du fait qu'elles sont les pollinisateurs à fleurs.

Le miel n'est pas le seul produit de la ruche ; la cire, le pollen, la propolis, la gelée royale et le venin sont des produits de la ruche et utilisés dans l'apithérapie.

Le *Varroa destructor* est considéré actuellement comme une menace pathogène majeure pour l'abeille domestique, *Apis mellifera*. Il cause des dommages au niveau individuel et jusqu'à l'effondrement de la colonie.

Le moyen de lutte le plus répandu entre les apiculteurs c'est celui des acaricides chimiques.

C'est pourquoi nous avons testé le pouvoir bioacaricide des plantes de la famille des Rutacées et l'arbre de l'Arganier.

Nous avons exploité les méthodes de la modélisation moléculaire pour tester la bioefficacité de ces molécules végétales en inhibant la protéine D-Glucose 1-phosphate qui joue un rôle dans la fonction glycolyse ; et on a confirmé les résultats in silico par le travail sur terrain.

(Belaïd and Doumandji, 2010) ont montré l'effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière.

(Bradbear, 2011) a cité l'impact des pesticides sur les abeilles et il a proposé les moyens de comment protéger les abeilles des pesticides.

(Maroua et al., 2020), (Mondet et al., 2016) ont fait une étude bibliographique sur le *Varroa destructor* et les moyens de lutte utilisés. Ils ont montré le taux de l'utilisations des traitements chimiques et leurs efficacités.

(Nedji, 2015) a mis en évidence les acaricides chimiques et leurs effets secondaires sur les abeilles.

(Lester, 2023), (Poirot, 2023) ont mis en évidence la résistance du parasite aux acaricides chimiques.

(Almecija et al., 2021) ont contribué à la modélisation de l'impact d'un traitement de l'Amitraz sur une population d'acariens Varroa et la résistance de parasite à ce traitement.

(Albero et al., 2022) ont démontré les résidus d'acaricides dans la cire d'abeille, les conséquences pour le miel, le couvain et les abeilles.

(Marsky et al., 2024) ont montré la résistance de *Varroa destructor* à l'Amitraz ; le traitement le plus utilisé.

(Murcia-Morales et al., 2019) ont montré dans leur étude la présence de l'Amitraz dans la cire d'abeille.

(Vilarem et al., 2021) ont souligné la nécessité de trouver une solution durable pour les abeilles domestiques et de telle sorte que les acariens Varroa ne développent aucune résistance.

(Özüüçli and Baykalır, 2024) ont testé le pouvoir bioacaricide de l'huile de thym, *Cinnamomum verum*, *Melaleuca viridiflora*, huiles essentielles de *Syzygium piceum*, et ils ont comparé les résultats donnés avec ceux donnés par l'Amitraz.

(Bava et al., 2022) ont contribué à l'utilisation des huiles essentielles de *Calamintha nepeta*, *Calamintha sylvatica*, *Lavandula austroapennina* et *Mentha piperita* pour la lutte contre le *Varroa destructor*.

(Elsadi et al., 2024) ont testé l'efficacité de l'huile de thym, l'ail, le melon amer, le basilic, la moutarde, les clous de girofle, l'eucalyptus, le romarin, la menthe pour contrôler le *Varroa destructor*.

(Bava et al., 2023), (Castagna et al., 2022) ont testé l'efficacité de la famille des Lamiacées contre la Vaaroose.

(Romanchuk et al., 2020) ont prouvé que l'extrait naturel d'épicéa est une méthode alternative efficace pour lutter contre la Vaaroose en apiculture biologique.

(Bava et al., 2021) ont testé in vitro de la toxicité aiguë de cinq huiles essentielles du genre *Citrus* contre l'acarien parasite *Varroa destructor*.

(Riva et al., 2019) ont cherché un nouveau traitement original inhibant sélectivement le *Varroa destructor* en utilisant des méthodes du docking moléculaire.

(Jindal et al., 2022) ont montré que la peptidomimétique de la proctoline pourrait représenter une approche très prometteuse pour le développement d'agents acaricides pour la gestion de l'acarien *Varroa* à l'aide des méthodes de modélisation moléculaire.

(Dulin et al., 2014) ont identifié un nouveau traitement contre le *Varroa destructor* par des études in silico, in vitro et in vivo.

(Bava et al., 2022) ont montré l'efficacité acaricide de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* contre le *Varroa destructor* par des tests de fumigation in vitro et sur le terrain.

(Sabri et al., 2024) ont testé l'efficacité de la propolis contre le parasite *Varroa destructor* au niveau du laboratoire dans des boîtes pétri.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs qui ont mis en évidence l'efficacité de nombreuses huiles essentielles appliquées comme bioacaricides.

Les auteurs ont montré l'impact des acaricides chimiques et leur persistance dans les produits de la ruche.

De nombreuses études in silico et in vitro ont été réalisées ce qui normalise notre travail et nos résultats.

De nombreux chercheurs ont testé leurs traitements sur les ruches avec de multiples méthodes.

Nous pouvons donc proposer l'utilisation de l'huile essentielle *Fortunella* à nos apiculteurs pour lutter contre le *Varroa destructor*, protégeant les abeilles ainsi notre santé et notre environnement.

CONCLUSION GENERALE

ET PERSPECTIVES

Conclusion générale

Notre travail a pour objectif de tester le pouvoir inhibiteur des principes actifs des huiles essentielles des plantes de la famille des Rutacées et l'arbre de l'Arganier pour le contrôle de *Varroa destructor* ; l'acarien ectoparasite de l'abeille domestique, *Apis mellifera*.

Ce travail est constitué de quatre chapitres :

Le premier chapitre donne un aperçu bibliographique sur les abeilles, le parasite et les huiles essentielles.

Le deuxième chapitre représente l'étude bioclimatique de trois stations Zenata, Béni Saf et Ghazaouet durant l'ancienne période (1913 – 1938) et la nouvelle période (1992 – 2023). Nous avons remarqué les changements entre les deux périodes et qui étaient principalement par rapport à l'augmentation des températures et la sécheresse.

Dans le troisième chapitre nous avons présenté le matériel utilisé dans nos calculs in silico et sur terrain et la méthode qu'on a exploité lors des calculs ainsi sur terrain.

Nous avons exposé et discuter dans le quatrième chapitre nos résultats. Ainsi, nous avons comparé entre les résultats donnés par les molécules naturelles et ceux donnés par les molécules chimiques.

La construction par homologie de la structure 3D de la protéine a été faite grâce au serveur I-TASSER. Nous avons obtenu alors la structure tridimensionnelle de la protéine D-Glucose 1-phosphate responsable de la fonction glycolyse dans l'acarien *Varroa destructor*.

Les résultats d'alignement des séquences de la protéine D-Glucose 1-phosphate n'ont donné aucune ressemblance à l'espèce humaine ou/et les espèces d'abeilles.

Nous avons vérifié et évalué la toxicité des molécules et leurs ressemblances avec les médicaments. Ceci a été effectué via le serveur SwissADME ; les molécules ont été conformes à cette analyse.

Les résultats de l'optimisation de l'énergie ont été réalisés à l'aide de logiciel « Chimera, version 1.17.2 ».

Le docking moléculaire avec « Autodock vina, version 1.5.7 » nous a permis d'évaluer l'affinité entre les inhibiteurs naturels / chimiques et la protéine D-Glucose 1-phosphate.

L'acaricide chimique Tau-fluvalinate a donné la meilleure valeur d'énergie de liaison qui est de -8.8 Kcal/mol. L'Amitraz ; le traitement le plus utilisé par les apiculteurs a donné une affinité de -8.3 Kcal/mol.

Les molécules végétales Alismol, Germacrène D et Guaïol ont donné la meilleure valeur d'énergie de liaison qui est de -7.1 Kcal/mol. Toutes les autres molécules ont donné de très bons résultats du docking moléculaire.

La visualisation des interactions chimiques 2D données par le logiciel « BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 » a montré les interactions chimiques suivantes : Alkyl, Pi-alkyl, Van der Waals, liaison carbone, Pi-sigma, Pi-cation, Halogen, Pi-Pi Stacked, Pi-Pi T-Shaped.

α -eudesmol, (E,Z)-farnesol, Ethylhexanoate, Ethyloctanoate, β -eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol, Linalool, Géraniol, 2-Undécanol, 1-Dodécanol sont les ligands qui ont formés des liaisons hydrogènes avec la protéine D-Glucose 1-phosphate qui sont des liaisons fortes ; c'est ce qui rend ces complexes plus stables.

Tau-fluvalinate, Coumaphos, Acide formique ont ainsi formé des liaisons hydrogènes avec la protéine D-Glucose 1-phosphate à l'exception de l'Amitraz.

Les régions hydrophobes dans les complexes formés ont été visualisées grâce au logiciel « BIOVIA Discovery Studio, version 21.1.0 ».

La région hydrophobe la plus élevée se trouve dans pratiquement tous les complexes D-Glucose 1-phosphate / inhibiteurs naturels. L'accroissement des zones hydrophobes dans le site actif entraînera une hausse de l'activité d'inhibition biologique ; ce qui rend l'interaction entre les molécules naturelles et la protéine du *Varroa destructor* stable et l'inhibition élevée.

Les résultats de la dynamique moléculaire ont montré que les molécules, β -eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol, (E,Z)-farnesol forment avec la protéine D-Glucose 1-phosphate les complexes les plus stables par rapport au complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz.

Le Schoténol extrait de l'huile essentielle de l'Arganier a donné une bonne affinité avec les protéines du Varroa ; le Cytochrome c oxidase et l'Acétylcholinestérase en comparant avec les acaricides chimiques.

Le Schoténol a formé un complexe stable avec la protéine Cytochrome c oxidase après les calculs de dynamique moléculaire.

Les doses de l'huile essentielle *Fortunella* qui ont été appliquées au niveau du laboratoire ont été efficaces contre le Varroa ; ces derniers sont tous décrochés de l'abdomen et/ou le thorax des abeilles.

La dose 3 μ L estime la valeur maximale sans effet sur les abeilles.

La dose 2.75 μ L estime la valeur minimale efficace contre le *Varroa destructor*.

Après avoir respecté les doses adéquates et nous avons appliqué le traitement directement sur la ruche nous pouvons confirmer l'efficacité de l'huile essentielle *Fortunella* pour le contrôle des Varroas.

Enfin, à travers notre étude, les calculs in silico, les expériences au niveau du laboratoire et les applications sur terrain ; nous avons prouvé le pouvoir bio-acaricides de l'huile essentielle de *Fortunella* de la famille des Rutacées pour le contrôle de *Varroa destructor* ; l'acarien ectoparasite des abeilles domestiques, *Apis mellifera*. Cette huile naturelle n'a montré aucun effet néfaste sur l'homme, les abeilles et l'environnement. Nous proposons donc ce traitement naturel comme alternative aux traitements chimiques utilisés par les apiculteurs.

Perspectives

- ✓ Encourager la culture des Kumquats dans les vergers.
- ✓ Appliquer l'huile essentielle des Kumquats directement dans les ruchers.
- ✓ Valoriser et commercialiser le produit.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abdullah, F., Mohammed, R., 2012. Modélisation de la répartition du transfert des métaux lourds et des oligoéléments dans les sols forestiers, l'huile d'argan et dans les différentes parties d'arganier.
2. Aboughe-Angone, S., Nguema-Ona, E., Ghosh, P., Lerouge, P., Ishii, T., Ray, B., Driouich, A., 2008. Cell wall carbohydrates from fruit pulp of *Argania spinosa*: structural analysis of pectin and xyloglucan polysaccharides. *Carbohydrate Research* 343, 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.10.018>
3. Abraham, M.J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J.C., Hess, B., Lindahl, E., 2015. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX* 1–2, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
4. Adjlane, N., Doumandji, S.-E., Haddad, N., 2012. Situation de l'apiculture en Algérie : facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. *Cahiers Agricultures* 21, 235-241 (1). <https://doi.org/10.1684/agr.2012.0566>
5. Adjlane, N., Nizar, J.H., 2017. Evaluation of the resistance of the mite *Varroa destructor* to the amitraz in colonies of honey bees (*Apis mellifera*) in algeria cezayir'de bal arisi (*Apis mellifera*) kolonilerinde akarın (*Varroa destructor*) Amitraz'a Direncinin Değerlendirilmesi. <https://doi.org/10.31467/uluaricilik.373716>
6. Aizen, M.A., Harder, L.D., 2009. The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr Biol* 19, 915–918. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.071>
7. Albero, B., Miguel, E., García-Valcárcel, A., 2022. Acaricide Residues in Beeswax. Implications in Honey, Brood and Honeybee and Influence of Landscape Around Colonies. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2247080/v1>
8. Alcaraz, C., 1983. La tetracinaie sur terra rosa en sous étage Sub humide inferieur chaud en Oranaie (Ouest Algérien) 9(2).

9. Allinger, N.L., 1976. Calculation of Molecular Structure and Energy by Force-Field Methods, in: Gold, V., Bethell, D. (Eds.), *Advances in Physical Organic Chemistry*. Academic Press, pp. 1–82. [https://doi.org/10.1016/S0065-3160\(08\)60212-9](https://doi.org/10.1016/S0065-3160(08)60212-9)
10. Almecija, G., Poirot, B., Ventelon, M., Suppo, C., 2021. Modelling the impact of Apivar treatment on a Varroa mite population and the influence of resistance. *Pest Management Science* 78. <https://doi.org/10.1002/ps.6698>
11. Al-Saman, M.A., Abdella, A., Mazrou, K.E., Tayel, A.A., Irmak, S., 2019. Antimicrobial and antioxidant activities of different extracts of the peel of kumquat (*Citrus japonica* Thunb). *Food Measure* 13, 3221–3229. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00244-y>
12. Alvarez, J.C., 2004. High-throughput docking as a source of novel drug leads. *Current Opinion in Chemical Biology* 8, 365–370. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.05.001>
13. Amdam, G.V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A., Omholt, S.W., 2004. Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering *J Econ Entomol* 97, 741–747. <https://doi.org/10.1093/jee/97.3.741>
14. Anderson, D.L., 1994. Non-product of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidol.*, (31):281-92p.
15. Anderson, D.L., 1988. Pathologist report 199: 12–15p.
16. Anderson, D.L., Trueman, J.W.H., 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Exp Appl Acarol* 24, 165–189. <https://doi.org/10.1023/A:1006456720416>
17. Anderson, D.L., Trueman, J.W.H., 1999. Are there different species of *Varroa jacobsoni* in: *Proc. XXXV1. Apimondia Congr, Canada*.
18. Annoscia, D., Del Piccolo, F., Covre, F., Nazzi, F., 2015. Mite infestation during development alters the in-hive behaviour of adult honeybees. *Apidologie* 46, 306–314. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0323-0>

19. Astuti, A.D., Refianti, R., Mutiara, A., 2011. Molecular Dynamics Simulation on Protein Using Gromacs. *International Journal of Computer Science and Information Security* Vol. 9, 16–20.
20. Attou, A., 2017. Détermination De La Composition Chimique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques De L'ouest Algérien (région D'ain Témouchent) Etude De Leurs Activités Antioxydante Et Antimicrobienne [WWW Document]. URL <https://theses-algerie.com/3093508751358614/these-de-doctorat/universite-abou-bekr-belkaid-tlemcen/determination-de-la-composition-chimique-des-huiles-essentielles-de-quatre-plantes-aromatiques-de-louest-algerien-region-dain-temouchent-etude-de-leurs-activites-antioxydante-et-antimicrobienne> (accessed 10.29.24).
21. Baggio, A., Arculeo, P., Nanetti, A., Marinelli, E., Mutinelli, F., 2004. Field trials with different thymol-based products for the control of varroosis. *American Bee Journal* 144, 395–400.
22. Barka, F., 2016. Etude des groupements à matorral dans le littoral de la région de Tlemcen. Aspects phytoécologiques et cartographie.
23. Bava, R., Castagna, F., Lupia, C., Ruga, S., Musella, V., Conforti, F., Marrelli, M., Argentieri, M.P., Britti, D., Statti, G., Palma, E., 2023. Chemical Profile of Essential Oils of Selected Lamiaceae Plants and In Vitro Activity for Varroosis Control in Honeybees (*Apis mellifera*). *Veterinary Sciences* 10, 701. <https://doi.org/10.3390/vetsci10120701>
24. Bava, R., Castagna, F., Palma, E., Musolino, V., Carresi, C., Cardamone, A., Lupia, C., Marrelli, M., Conforti, F., Roncada, P., Musella, V., Britti, D., 2022. Phytochemical Profile of *Foeniculum vulgare* Subsp. piperitum Essential Oils and Evaluation of Acaricidal Efficacy against *Varroa destructor* in *Apis mellifera* by In Vitro and Semi-Field Fumigation Tests. *Veterinary Sciences* 9, 684. <https://doi.org/10.3390/vetsci9120684>
25. Bava, R., Castagna, F., Piras, C., Palma, E., Cringoli, G., Musolino, V., Lupia, C., Perri, M., Statti, G., Britti, D., Musella, V., 2021. In Vitro Evaluation of Acute Toxicity of Five *Citrus* spp. Essential Oils towards the Parasitic Mite *Varroa destructor*. *Pathogens* 10, 1182. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091182>

26. Bekkal Brikci, S., 2019, figure.
27. Belaid, M., Doumandji, S., 2010. EFFET DU *VARROA DESTRUCTOR* SUR LA MORPHOMETRIE ALAIRE ET SUR LES COMPOSANTS DU SYSTEME IMMUNITAIRE DE L'ABEILLE OUVRIERE *APIS MELLIFERA INTERMISSA*. Lebanese science journal 11.
28. Belhadji, A, 2025, figure.
29. Belhadji, A., 2024, figure.
30. Belhadji, A., 2023, figure.
31. Belhadji, A., Abdelli, I., Hassani, F., Brikci, S.B., Ghalem, S., Rehman, H.M., Kechairi, R., 2022. An in silico study into the bioacaricide power of the Algerian argan tree against *Varroa destructor*. Biologija 68. <https://doi.org/10.6001/biologija.v68i4.4839>
32. Benabdesslem, Y., 2005. Etude cytogénétique de deux populations L'Arganier (*Arganier spinosa L.*) Skeels présentes en Maroc (Mémoire de Magister). Mohammed Boudiaf USTO, Oran.
33. Benito-Murcia, M., Bartolomé, C., Maside, X., Bernal, J., Bernal, J.L., del Nozal, M.J., Meana, A., Botías, C., Martín-Hernández, R., Higes, M., 2021. Residual Tau-Fluvalinate in Honey Bee Colonies Is Coupled with Evidence for Selection for *Varroa destructor* Resistance to Pyrethroids. Insects 12, 731. <https://doi.org/10.3390/insects12080731>
34. Bennani, H., Drissi, A., Giton, F., Kheuang, L., Fiet, J., Adlouni, A., 2007. Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. Cancer Detection and Prevention 31, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.cdp.2006.09.006>
35. Bernard, F., 2003. Les maladies de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) et leurs conséquences sanitaires en France. Université Claude Bernard, Lyon.
36. Biri, M., 2011. Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture, 72nd ed. Paris.

37. Blenau, W., Rademacher, E., Baumann, A., 2012. Plant essential oils and formamidines as insecticides/acaricides: what are the molecular targets. *Apidologie* 43, 334–347. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0108-7>
38. Bogdanov, S., 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie* 37, 1–18. <https://doi.org/10.1051/apido:2005043>
39. Bogdanov, S., 2005. Contaminants of bee products. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2005043> 37. <https://doi.org/10.1051/apido:2005043>
40. Boot, W.J., Calis, J.N.M., Beetsma, J., 1992. Differential periods of Varroa mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Exp Appl Acarol* 16, 295–301. <https://doi.org/10.1007/BF01218571>
41. Bordoli, L., Kiefer, F., Arnold, K., Benkert, P., Battey, J., Schwede, T., 2009. Protein structure homology modelling using SWISS-MODEL workspace. *Nature protocols* 4, 1–13. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.197>
42. Botineau, M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, TEC et DOC. ed. Lavoisier, Paris.
43. Boucher, S., 2016. Maladies des abeilles, France Agricole. ed. Paris.
44. Boutry, C., Bos, C., Tomé, D., 2008. Les besoins en acides aminés. *Nutrition Clinique Et Metabolisme - NUTR CLIN METAB* 22, 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2008.10.005>
45. Bradbear, N., 2011. Le rôle des abeilles dans le développement rural: manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles, Produits forestiers non ligneux. FAO, Rome.
46. Brahimi, T., 2005. Etude cytogénétique de deux populations L'Arganier (*Arganier spinosa L.*) Skeels présentes en Algérie. (Thèse de Magister). Mohammed Boudiaf USTO, Oran.
47. Briggs, M.A., Petersen, K.S., Kris-Etherton, P.M., 2017. Saturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Replacements for Saturated Fat to Reduce Cardiovascular Risk. *Healthcare (Basel)* 5, 29. <https://doi.org/10.3390/healthcare5020029>

48. Brooks, B.R., Brooks, C.L., MacKerell, A.D., Nilsson, L., Petrella, R.J., Roux, B., Won, Y., Archontis, G., Bartels, C., Boresch, S., Caflisch, A., Caves, L., Cui, Q., Dinner, A.R., Feig, M., Fischer, S., Gao, J., Hodoscek, M., Im, W., Kuczera, K., Lazaridis, T., Ma, J., Ovchinnikov, V., Paci, E., Pastor, R.W., Post, C.B., Pu, J.Z., Schaefer, M., Tidor, B., Venable, R.M., Woodcock, H.L., Wu, X., Yang, W., York, D.M., Karplus, M., 2009. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program. *J Comput Chem* 30, 1545–1614. <https://doi.org/10.1002/jcc.21287>
49. Bruice, T.C., 2006. computational approaches: reaction trajectoires, structures and atomic motions. *Enzyme reaction and proficiency. Chemical reviews* 3119–3139.
50. Bruneau, E., Barbançon, J.M., Bonnaffé, P., Clément, H., Domerego, R., Fert, G., Le Conte, Y., Ratia, G., Reeb, C., Vaissière, B., 2018. *Le Taité rustica de l'apiculture, Rustica. ed. Paris.*
51. Bruneton, J., n.d. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)* - - BRUNETON Jean (EAN13 : 9782743019044) | e.lavoisier - Ma librairie ebooks [WWW Document]. Lavoisier. URL <https://e.lavoisier.fr/produit/32019/9782743019044/pharmacognosie-phytochimie-plantes-medicinales-4e-ed> (accessed 10.9.24).
52. Bruneton Jean, 1999. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* / Jean Bruneton,...., 3e édition revue et augmentée. ed. Éd. Tec & doc Éd. médicales internationales, Paris Cachan.
53. Buriani, A., Fortinguerra, S., Sorrenti, V., Caudullo, G., Carrara, M., 2020. Essential Oil Phytocomplex Activity, a Review with a Focus on Multivariate Analysis for a Network Pharmacology-Informed Phylogenomic Approach. *Molecules* 25, 1833. <https://doi.org/10.3390/molecules25081833>
54. Buronzo, A.M., 2008. *Grand guide des huiles essentielles santé beauté bien être, Hachette pratique. ed.*
55. Bussi, G., Donadio, D., Parrinello, M., 2007. Canonical sampling through velocity rescaling. *J Chem Phys* 126, 014101. <https://doi.org/10.1063/1.2408420>

56. Cahier, T., 2019. Cahier Technique Apicole: Améliorer la gestion de Varroa pour sa propre exploitation. Résultats d'expérimentation ADA-ITSAP-INRA-Apiculteurs.
57. Calis, J., Fries, I., C. Ryrie, S., 1999. Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30, 111–124.
58. Carvalho, J.C.S., Pirani, J.R., Ferreira, M.J.P., 2022. *Esenbeckia* (Pilocarpinae, Rutaceae): chemical constituents and biological activities. *Braz. J. Bot* 45, 41–65. <https://doi.org/10.1007/s40415-021-00747-3>
59. Castagna, F., Bava, R., Piras, C., Carresi, C., Musolino, V., Lupia, C., Marrelli, M., Conforti, F., Palma, E., Britti, D., Musella, V., 2022. Green Veterinary Pharmacology for Honey Bee Welfare and Health: *Origanum heracleoticum* L. (Lamiaceae) Essential Oil for the Control of the *Apis mellifera* Varroaosis. *Veterinary Sciences* 9, 124. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030124>
60. Chaâbane, A., 1993. - Etude de la végétation du littoral septentrionale de Tunisie : Typologie, syntaxonomie et éléments d'aménagements (Thèse de doctorat). Aix-Marseille III.
61. Chapuy, C., Ribbens, L., Renou, M., Dacher, M., Armengaud, C., 2019. Thymol Affects Congruency Between Olfactory and Gustatory Stimuli in Bees. *Sci Rep* 9, 7752. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43614-8>
62. Charpentier, G., Vidau, C., Ferdy, J.-B., Tabart, J., Vetillard, A., 2014. Lethal and sub-lethal effects of thymol on honeybee (*Apis mellifera*) larvae reared in vitro. *Pest Manag Sci* 70, 140–147. <https://doi.org/10.1002/ps.3539>
63. Charrière, J.-D., Imdorf, A., Bachofen, B., Tschan, A., 2003. The removal of capped drone brood: an effective means of reducing the infestation of varroa in honey bee colonies. *Bee World* 84, 117–124. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2003.11099587>
64. Charrouf, M., 1984. Contribution de l'étude chimique de l'huile d'*Argania spinosa* (L.) (Sapotaceae) (Thèse Sciences). Univ Perpignon.
65. Charrouf, P.Z., 2002. L'huile d'argane, une prodigieuse vitalité née au bord du désert 8.

66. Charrouf, Z., 1999. Valorisation des produits de l'arganier pour une gestion durable des zones arides du sud-ouest marocain.
67. Charrouf, Z., Benomar, M., Guillaume, D., 2007. Huile d'argan et système cardiovasculaire. *Coeur et vaisseaux*.
68. Cheraief, I., Tarhouni, M., 1997. Apport du couplage CPG/SM dans l'analyse des constituants d'huiles essentielles De Romarin d'origine nord et sud du Bassin méditerranéens. *Inter. J. Anal. Chemistry -Analysis-* 25/6 (1997) 17-18.
69. Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El Messal, M., Bamou, Y., Idrissi-Ouadghiri, A., Khalil, A., Adlouni, A., 2005. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 15, 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2004.08.005>
70. Chermette, H., 1998. Density functional theory: A powerful tool for theoretical studies in coordination chemistry. *Coordination Chemistry Reviews* 178–180, 699–721. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(98\)00179-9](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(98)00179-9)
71. Chevalier, A., 1943. L'argan, les marmulanos et les noyers, arbre d'avenir en Afrique du Nord, en Marocaine et dans les régions semi-désertiques du globe si on les améliore.
72. Clément, H., 2017. Le monde des abeilles, Rustica. ed. Paris.
73. Colin, T., Lim, M.Y., Quarrell, S.R., Allen, G.R., Barron, A.B., 2019. Effects of thymol on European honey bee hygienic behaviour. *Apidologie* 50, 141–152. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0625-8>
74. Conférence FNOSAD, 2020.
75. Corbeil, C.R., Englebienne, P., Moitessier, N., 2007. Docking Ligands into Flexible and Solvated Macromolecules. 1. Development and Validation of FITTED 1.0. *J. Chem. Inf. Model.* 47, 435–449. <https://doi.org/10.1021/ci6002637>
76. De Guzman, L., Delfinado-Baker, M., 1996. A new species of Varroa (Acari: Varroidae) associated with *Apis koschevnikovi* (Apidae: Hymenoptera) in Borneo. *International Journal of Acarology* 22, 23–27. <https://doi.org/10.1080/01647959608684077>

77. de Guzman, L.I., Rinderer, T.E., Stelzer, J.A., 1997. DNA evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochem Genet* 35, 327–335. <https://doi.org/10.1023/a:1021821821728>
78. De Layens, G., Bonnier, G., 1897. Cours complet de l'apiculture (culture et abeilles). Paris.
79. De Martonne, E., 1926. Une nouvelle fonction climatologique : l'indice d'aridité.
80. De Parcevaux, S., Huber, L., 2007. Bioclimatologie Concepts et applications, Quæ. ed. Paris.
81. Delfinado-Baker, M., Houck, M.A., 1989. Geographic variation in *Varroa jacobsoni* (Acari, Varroidae) : application of multivariate morphometric techniques. *Apidologie* 20, 345–358. <https://doi.org/10.1051/apido:19890407>
82. Derbach, J., 1953. Notes sur les climats du Maroc occidental. *Maroc méridional*, 32 1122–1134.
83. Di Prisco, G., Zhang, X., Pennacchio, F., Caprio, E., Li, J., Evans, J.D., DeGrandi-Hoffman, G., Hamilton, M., Chen, Y.P., 2011. Dynamics of Persistent and Acute Deformed Wing Virus Infections in Honey Bees, *Apis mellifera*. *Viruses* 3, 2425–2441. <https://doi.org/10.3390/v3122425>
84. Diemer, I., 1988. Bees and Beekeeping, First Edition. ed. Murdoch Books, London.
85. Djaalali, S., Bayoud, H., 2020. Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens* : Morphométrie. (Mémoire de Master). Université Larbi Tébessi- Tébessa, Algérie.
86. Djazer, H., 2014. Extraction et analyse physico-chimique et effet antimicrobien des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique du Romarin « *Rosmarinus officinalis.L* » de deux régions Blida et Djelfa (Mémoire de Master). Université Blida 1, Algérie.
87. Djebaili, S., 1984. Steppe Algérienne, phytosociologie et écologie.O.P.U. Alger.

88. Djebri, A., Douib, B., 2020. Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens* : Aspect toxicologique. (Mémoire de Master). Université Larbi Tébessi- Tébessa, Algérie.
89. Donzé, G., Guerin, P.M., 1994. Behavioral Attributes and Parental Care of Varroa Mites Parasitizing Honeybee Brood. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34, 305–319.
90. Dooremalen, C. van, Gerritsen, L., Cornelissen, B., Steen, J.J.M. van der, Langevelde, F. van, Blacquièrre, T., 2012. Winter Survival of Individual Honey Bees and Honey Bee Colonies Depends on Level of *Varroa destructor* Infestation. *PLOS ONE* 7, e36285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036285>
91. Drissi, A., Girona, J., Cherki, M., Godàs, G., Derouiche, A., Messal, M.E., Saile, R., Kettani, A., Solà, R., Masana, L., Adlouni, A., 2004. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clinical Nutrition* 23, 1159–1166. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.003>
92. DrugBank - PubChem Data Source [WWW Document], n.d. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/DrugBank> (accessed 3.14.22).
93. Du, X., Li, Y., Xia, Y.-L., Ai, S.-M., Liang, J., Sang, P., Ji, X.-L., Liu, S.-Q., 2016. Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *Int J Mol Sci* 17, 144. <https://doi.org/10.3390/ijms17020144>
94. Dugas, H., 1996. Principes de base en modélisation moléculaire: aspects théoriques et pratiques, 4ème éd. ed. Librairie de l'Université de Montréal, Montréal.
95. Dulin, F., Zatylny-Gaudin, C., Ballandonne, C., Guillet, B., Bonafos, R., Bureau, R., Halm, M.P., 2014. Protecting honey bees: identification of a new varroacide by in silico, in vitro, and in vivo studies. *Parasitol Res* 113, 4601–4610. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4150-z>
96. El Aich, A., El Assouli, N., Fathi, A., Morand-Fehr, P., Bourbouze, A., 2007. Ingestive behavior of goats grazing in the Southwestern Argan (*Argania spinosa*) forest of Morocco. *Small Ruminant Research* 70, 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.03.011>

97. Elsadi, M., Keshlaf, M., Mirwan, H., 2024. Some essential oils as potential control agents for varroa mite (*Varroa destructor*) in infected honey bees (*Apis mellifera*). Open Veterinary Journal 14, 692. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i2.9>
98. Elzen, Eischen, P.J., F.A., Baxter, J.R., Elzen, G.W., Wilson, W.T., 1999. Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata: Varroidae) to the acaricide fluvalinate 13–17.
99. Elzen, P.J., Elzen, G.W., Stipanovic, R.D., 2001. Biological activity of grapefruit leaf burning residue extract and isolated compounds on *Varroa jacobsoni*. American Bee Journal 141, 369–371.
100. Emberger, L., 1955. Une classification biogéographique des climats 3–43.
101. Evans, D.J., Holian, B.L., 1985. The nose–hoover thermostat. Chem Phys 83.
102. Farhat, A., 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application.
103. Faucon, J.P., Drajnudel, P., Fléché, C., 1995. Mise en évidence d’une diminution de l’efficacité de l’Apistan® utilisé contre la varroose de l’abeille (*Apis mellifera* L.). Apidologie 26, 291–295. <https://doi.org/10.1051/apido:19950403>
104. Faucon, P., Chauzat, M.-P., 2008. Varroosis and others honey bee diseases: Major causes for colony mortality in France. Bulletin de l’Académie vétérinaire de France 161, 257–263.
105. Fernandez, N., 2002. Varroa : tueur d’abeilles : bien le connaître, pour mieux le combattre. Atlantica. Anglet.
106. Fernandez, X., Chemat, F., 2012. La chimie des huiles essentielles, Editions Vuibert. ed.
107. Festy, D., 2018. Ma bible des huiles essentielles, Rééd. enrichie et mise à jour. ed. Leduc.s pratique, Paris.
108. Festy, D., Pacchioni, I., 2016. Guide de poche d’aromathérapie, Leduc.s Éditions. ed. Paris.

109. Floret, C., Pontanier, R., 1984. Aridité climatique, aridité édaphique. Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques 131, 265–275. <https://doi.org/10.1080/01811789.1984.10826667>
110. Floris, I., Cabras, P., Garau, V., Minello, E., Satta, A., Troullier, J., 2001. Persistence and Effectiveness of Pyrethroids in Plastic Strips Against *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and Mite Resistance in a Mediterranean Area. Journal of economic entomology 94, 806–10. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.4.806>
111. Floris, I., Satta, A., Cabras, P., Garau, V.L., Angioni, A., 2004. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: effectiveness, persistence, and residues. J Econ Entomol 97, 187–191. <https://doi.org/10.1093/jee/97.2.187>
112. Fries, I., Rosenkranz, P., 1996. Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. Experimental and Applied Acarology (Netherlands).
113. Fuchs, S., 1992. Choice in *Varroa jacobsoni* Oud. between honey bee drone or workerbrood cells for reproduction. Behavioral Ecology and Sociobiology 31, 429–435. <https://doi.org/10.1007/BF00170610>
114. Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., Vaissière, B., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted to pollinator decline. Ecological Economics 68, 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>
115. Garcia, M., n.d. Le guide pour débiter avec les huiles essentielles.
116. García-Godoy, M.J., López-Camacho, E., García-Nieto, J., Nebro, A.J., Aldana-Montes, J.F., 2015. Solving Molecular Docking Problems with Multi-Objective Metaheuristics. Molecules 20, 10154–10183. <https://doi.org/10.3390/molecules200610154>
117. Garneau, F.-X., Collin, G.J., végétales, U. du Q. à C.L. d'analyse et de séparation des essences, Pierre, Z., 2005. Huile essentielle : de la plante à la commercialisation : manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi.

118. Gashout, H.A., Guzmán-Novoa, E., 2009. Acute toxicity of essential oils and other natural compounds to the parasitic mite, *Varroa destructor*, and to larval and adult worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Journal of Apicultural Research 48, 263–269. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.48.4.06>
119. GDP-D-glucose phosphorylase 1 - *Varroa destructor* (Honeybee mite) | UniProtKB | UniProt [WWW Document], n.d. URL <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A7M7JAW2/entry> (accessed 2.18.24).
120. Genç, F., Aksoy, A., 1992. The effects of infestation level of *Varroa jacobsoni* on wintering of honeybee (*A. mellifera* L.). Apiacta 27:33-38.
121. Gentleman, R.C., Carey, V.J., Bates, D.M., Bolstad, B., Dettling, M., Dudoit, S., Ellis, B., Gautier, L., Ge, Y., Gentry, J., Hornik, K., Hothorn, T., Huber, W., Iacus, S., Irizarry, R., Leisch, F., Li, C., Maechler, M., Rossini, A.J., Sawitzki, G., Smith, C., Smyth, G., Tierney, L., Yang, J.Y., Zhang, J., 2004. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. Genome Biology 5, R80. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-10-r80>
122. Giovenazzo, P., 2014. Application d’une stratégie de lutte intégrée contre le parasite *Varroa destructor* dans les colonies d’abeilles mellifères du Québec.
123. Girard, M., n.d. Combattre le parasite *Varroa destructor* par la sélection du trait comportemental Varroa Sensitive Hygiene chez l’abeille mellifère.
124. Gliński, Z., Jarosz, J., 1992. *Varroa jacobsoni* as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. Apidologie 23, 25–31. <https://doi.org/10.1051/apido:19920103>
125. GLINSKI, Z., JAROSZ, J., 1984. ALTERATIONS IN HAEMOLYMPH PROTEINS OF DRONE HONEY BEE LARVAE PARASITIZED BY VARROA JACOBSONI. Apidologie 15, 329–338.
126. Google Earth, 2023.
127. Google Maps, 2024.
128. Google Maps, 2023.

129. Gracia-Salinas, M.J., Ferrer-Dufo, M., Latorre-Castro, E., Monero-Manera, C., Castillo-Hernández, J., Lucientes-Curd, J., Peribáñez-López, M.A., 2006. Detection of fluvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. *Journal of Apicultural Research* 45, 101–105. <https://doi.org/10.1080/00218839.2006.11101326>
130. Guenez, N., Bakhouch, R., 2020. Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens* : Morphométrie. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.
131. Guo, W., Li, Z., Yuan, M., Chen, G., Li, Q., Xu, H., Yang, X., 2020. Molecular Insight into Stereoselective ADME Characteristics of C20-24 Epimeric Epoxides of Protopanaxadiol by Docking Analysis. *Biomolecules* 10, 112. <https://doi.org/10.3390/biom10010112>
132. Guzman, L.I., Rinderer, T., Beaman, L., 2006. Survival of *Varroa jacobsoni* Oud. (Acari: Varroidae) away from its living host *Apis mellifera* L. *Experimental & Applied Acarology*. <https://doi.org/10.1007/BF02337278>
133. Guzman-Novoa, E., 2016. Colony collapse disorder and other threats to honey bees. In *One Health Case Studies: Addressing Complex Problems in a Changing World*. 5m Publishing: Sheffield, England.
134. Hamdani, S., 2018. Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles des agrumes cultivés dans la région de Tlemcen. (Thesis). 11-11-2018.
135. Hammoudi, R., 2015. Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien (Thesis).
136. Harbo, J.R., Harris, J.W., 1999. Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 30, 183–196. <https://doi.org/10.1051/apido:19990208>
137. Herbarom, n.d. Guide complet sur les huiles essentielles. France.
138. Hernández-Rodríguez, C.S., Marín, Ó., Calatayud, F., Mahiques, M.J., Mompó, A., Segura, I., Simó, E., González-Cabrera, J., 2021. Large-Scale Monitoring of Resistance to Coumaphos, Amitraz, and Pyrethroids in *Varroa destructor*. *Insects* 12, 27. <https://doi.org/10.3390/insects12010027>

139. Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H., Fraaije, J., 1998. LINCS: A Linear Constraint Solver for molecular simulations. *Journal of Computational Chemistry* 18. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199709\)18:123.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199709)18:123.0.CO;2-H)
140. Houas, Y., 2021, figure.
141. <https://autodock.scripps.edu>, n.d.
142. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#>, n.d.
143. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>, n.d.
144. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/DrugBank>, n.d.
145. <https://sourceforge.net/projects/openbabel/>, n.d.
146. <https://www.3ds.com/products/biovia/discovery-studio>, n.d.
147. <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>, n.d.
148. <https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>, n.d.
149. <https://www.infoclimat.fr.>, n.d.
150. <https://www.kegg.jp/entry/C00103>, n.d.
151. <https://www.kegg.jp/pathway/map=vde00010&keyword=>, n.d.
152. <https://www.rcsb.org>, n.d.
153. <https://www.uniprot.org>, n.d.
154. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A7M7JAW2/entry#function>, n.d.
155. <https://zhanggroup.org/I-TASSER/>, n.d.
156. <http://www.swissadme.ch>, n.d.
157. <http://www.swissadme.ch/index.php>, n.d.

158. Humphrey, W., Dalke, A., Schulten, K., 1996. VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics* 14, 33–38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
159. Imdorf, A., Bogdanov, S., Ochoa, R.I., Calderone, N.W., 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. *Apidologie* 30, 209–228. <https://doi.org/10.1051/apido:19990210>
160. Jacquemond, C., Agostini, D., Cur, K., 2009. Des agrumes pour l'Algérie. Bureau d'ingénierie en horticulture et agro-industrie.
161. Jean-Prost, P., Le Conte, Y., 2005. Apiculture Connaitre l'abeille Conduire le rucher, 7ème. ed. Paris.
162. Jindal, V., Li, D., Rault, L.C., Fatehi, S., Singh, R., Mating, M., Zou, Y., Ng, H.-L., Kaczmarek, K., Zabrocki, J., Gui, S., Smagghe, G., Anderson, T.D., Nachman, R.J., Park, Y., 2022. Bee-safe peptidomimetic acaricides achieved by comparative genomics. *Sci Rep* 12, 17263. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20110-0>
163. Jo, S., 2014. Biomolecular Modelling and Simulations.
164. Jo, S., Kim, T., Iyer, V.G., Im, W., 2008. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. *J Comput Chem* 29, 1859–1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
165. Judd, W., Campbell, C., Kellogg, E., Stevens, P., 2002. Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. De Boeck Université, Bruxelles.
166. Kamler, M., Nesvorna, M., Stara, J., Erban, T., Hubert, J., 2016. Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Exp Appl Acarol* 69, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0023-8>
167. Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., Yamanishi, Y., 2008. KEGG for linking genomes to life and the environment. *Nucleic Acids Res* 36, D480-484. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm882>

168. Kechairi, R., 2022, figure.
169. KEGG PATHWAY: vde00010 [WWW Document], n.d. URL <https://www.kegg.jp/entry/vde00010> (accessed 2.18.24).
170. Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R., Bajorath, J., 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discov* 3, 935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
171. Koch, W., Holthausen, M.C., 2001. A Chemist's Guide to Density Functional Theory, 1st ed. Wiley. <https://doi.org/10.1002/3527600043>
172. Kretzschmar, A., Maisonnasse, A., Dussaubat, C., Cousin, M., Vidau, C., 2016. Performances des colonies vues par les observatoires de ruchers. *Innovations Agronomiques* 53, 81–93. <https://doi.org/10.15454/1.5137716161972214E12>
173. Kuenen, L.P.S., Calderone, N.W., 1997. Transfers of Varroa mites from newly emerged bees: Preferences for age- and function-specific adult bees (Hymenoptera: Apidae). *J Insect Behav* 10, 213–228. <https://doi.org/10.1007/BF02765554>
174. Labiod, R., 2016. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. (Thèse de doctorat). Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.
175. Lakhdar, L., Ennibi, O., Abdellah, M.B., Benazza, P.D., Farah, A., Péré, A., 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro.
176. Lamamra, 2018, 2018. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. (Mémoire de Magister). Université Ferhat Abbas-Setif, Algérie.
177. Latreche, W., Mansor, N., 2021. Les huiles essentielles, activités biologiques d'une plante aromatique (Mémoire de Master Académique). Université Mohamed Boudiaf-M'sila.

178. Latreche, W.M., 2021. Les huiles essentielles, activités biologiques d'une plante aromatique. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.
179. Le Conte, Y., 2006.
180. Le Conte, Y., 2004. Mieux connaître l'abeille. La vie sociale de la colonie. In : Bruneau E., Barbançon J.-M., Bonnaffé P., Clément H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y., Ratia G., Reeb C., Vaissière B. Le traité Rustica de l'apiculture., Rustica. ed. Paris.
181. Le Conte, Y., Arnold, G., 1987. Influence de l'âge des abeilles (*Apis mellifica* L.) et de la chaleur sur le comportement de *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 18, 305–320. <https://doi.org/10.1051/apido:19870402>
182. Le Conte, Y., Arnold, G., Desenfant, Ph., 1990. Influence of Brood Temperature and Hygrometry Variations on the Development of the Honey Bee Ectoparasite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). Environmental Entomology 19, 1780–1785. <https://doi.org/10.1093/ee/19.6.1780>
183. Le Houerou, H.N., 2007. Biomes isoclimatiques méditerranéens : bioclimatologie, diversité et phytogéographie.
184. Leach, A.R., 1996. Empirical force field models: molecular mechanics, in Molecular modeling: principles and applications, Longman, A.W., Editor: Harlow, England.
185. Lee, J., Cheng, X., Swails, J.M., Yeom, M.S., Eastman, P.K., Lemkul, J.A., Wei, S., Buckner, J., Jeong, J.C., Qi, Y., Jo, S., Pande, V.S., Case, D.A., Brooks, C.L.I., MacKerell, A.D.Jr., Klauda, J.B., Im, W., 2016. CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simulations Using the CHARMM36 Additive Force Field. J. Chem. Theory Comput. 12, 405–413. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>
186. Legon, A., 2020. The Hydrogen Bond, the Halogen Bond and Rotational Spectroscopy: A Personal Retrospective. J Indian Inst Sci 100, 191–202. <https://doi.org/10.1007/s41745-019-00147-3>

187. León-Méndez, G., Pajaro, N., Pájaro-Castro, E., Torrenegra, M., Herrera, A., 2019. Essential oils as a source of bioactive molecules. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 48, 80–93. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80067>
188. Lester, P., 2023. Integrated resistance management for acaricide use on *Varroa destructor*. *Frontiers in Bee Science* 1, 1297326. <https://doi.org/10.3389/frbee.2023.1297326>
189. Lhomme, M., 1990. *Varroa jacobsoni* (Oudemans 1904) : morphologie, biologie et étude spécifique du système respiratoire et du comportement (Thèse de Doctorat vétérinaire). Faculté de Médecine, Nantes, Nantes.
190. Lichtenthaler, F.W., 1995. 100 Years “Schlüssel-Schloss-Prinzip”: What Made Emil Fischer Use this Analogy *Angewandte Chemie International Edition in English* 33, 2364–2374. <https://doi.org/10.1002/anie.199423641>
191. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev* 46, 3–26. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(00)00129-0)
192. Lipiński, Z., Szubstarski, J., Szubstarska, D., 2007. Detection of the high risk pyrethroid resistant *Varroa destructor* mites in apiaries of the Warmia-Mazury province in Poland. *Wiad Parazytol* 53, 245–249.
193. Loussert, R., 1998. *Les agrumes : Arboriculture.*, Lavoisier. ed. Paris.
194. Luro, F., 2015. *L’origine des agrumes : Leur évolution et la naissance des espèces cultivées.*
195. Maggi, M., Ruffinengo, S., Gende, L., Eguaras, M., Sardella, N., 2008. LC 50 baseline levels of amitraz, coumaphos, fluvalinate and flumethrin in populations of *Varroa destructor* from Buenos Aires Province, Argentina. *Journal of Apicultural Research* 47, 292–295. <https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101477>
196. Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Mendoza, Y., Ojeda, P., Ramallo, G., Floris, I., Eguaras, M.J., 2011. Susceptibility of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) to synthetic

- acaricides in Uruguay: Varroa mites' potential to develop acaricide resistance. *Parasitol Res* 108, 815–821. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2122-5>
197. Maroua, O., Manel, G., Zhor, S., 2020. Etude bibliographique sur le parasite de l'abeille mellifère : *Varroa destructor* et les moyens de lutte.
 198. Marsky, U., Rognon, B., Douablin, A., Viry, A., Ramos, M., Abderrahim, H., 2024. Amitraz Resistance in French Varroa Mite Populations—More Complex Than a Single-Nucleotide Polymorphism. *Insects* 15, 390. <https://doi.org/10.3390/insects15060390>
 199. Martin, S., 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109, 267–281. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(98\)00059-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(98)00059-3)
 200. Martin, S.J., 1994. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp Appl Acarol* 18, 87–100. <https://doi.org/10.1007/BF00055033>
 201. Mathieu, L., Faucon, J.-P., 2000. Changes in the response time for *Varroa jacobsoni* exposed to amitraz. *Journal of Apicultural Research* 39, 155–158. <https://doi.org/10.1080/00218839.2000.11101036>
 202. Mayer, F., 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite [WWW Document]. URL https://www.researchgate.net/publication/323770041_Utilisations_therapeutiques_des_huiles_essentielles_Etude_de_cas_en_maison_de_retraite (accessed 10.29.24).
 203. Mecheri, R., Hammouchène, s., 2020. Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens* : Morphométrie. (Mémoire de Master). Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.
 204. Menasri, I., Kais, M., 2021. Les Huiles Essentielles et les Infections Microbiennes. (Mémoire de Master). Université Larbi Ben Mhidi- Oum El Bouaghi, Algérie.

205. Merghache, S., HAMZA, M., Boufeldja, T., 2009. Etude phytochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie. *Afrique Science* 05, 67–81. <https://doi.org/10.4314/afsci.v5i1.61708>
206. Milani, N., 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30, 229–234.
207. Miller III, B., McGee Jr, T., Swails, J., Homeyer, N., Gohlke, H., Roitberg, A., 2012. MMPBSA.py: an efficient program for end-state free energy calculations. *J Chem Theory Comput* 8:3314–3321. *Journal of Chemical Theory and Computation* 8, 3314–3321. <https://doi.org/10.1021/ct300418h>
208. Miozes-Koch, R., Slabezki, Y., Efrat, H., Kalev, H., Kamer, Y., Yakobson, Dag, A., 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mite using bioassay and biochemical methods. *Experimental & applied acarology* 24, 35–43. <https://doi.org/10.1023/A:1006379114942>
209. Mondet, F., Goodwin, M., Mercer, A., 2011. Age-related changes in the behavioural response of honeybees to Apiguard®, a thymol-based treatment used to control the mite *Varroa destructor*. *J Comp Physiol A* 197, 1055–1062. <https://doi.org/10.1007/s00359-011-0666-1>
210. Mondet, F., Maisonnasse, A., Kretzschmar, A., Alaux, C., Vallon, J., Basso, B., Dangleant, A., Le Conte, Y., 2016. Varroa : son impact, les méthodes d'évaluation de l'infestation et les moyens de lutte. <https://doi.org/10.15454/1.513771355641414E12>
211. Moritz, R., de Miranda, J., Fries, I., Le Conte, Y., Neumann, P., Paxton, R., 2010. Research strategies to improve honeybee health in Europe. *Apidologie* 41, 227–242. <https://doi.org/10.1051/apido/2010010>
212. Morris, G.M., Lim-Wilby, M., 2008. Molecular docking. *Methods Mol Biol* 443, 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19
213. Msanda, F., Aboudi, A.E., Peltier, J.-P., 2005. Biodiversité et biogéographie de l'arganeraie marocaine. *Cahiers Agricultures* 14, 357–364 (1).

214. Muchtaridi, M., Syahidah, H.N., Subarnas, A., Yusuf, M., Bryant, S.D., Langer, T., 2017. Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. *Pharmaceuticals (Basel)* 10, 81. <https://doi.org/10.3390/ph10040081>

215. Murcia-Morales, M., Gomez Ramos, M.J., Vázquez, P., Díaz-Galiano, F., Valverde, M., López, V., Flores, J.M., Fernández-Alba, A., 2019. Distribution of chemical residues in the beehive compartments and their transfer to the honeybee brood. *Science of The Total Environment* 710, 136288. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136288>

216. Murphy, J., Breeze, T., Willcox, B., Kavanagh, S., Stout, J., 2022. Globalisation and pollinators: Pollinator declines are an economic threat to global food systems. *People and Nature* 4, 1–13. <https://doi.org/10.1002/pan3.10314>

217. Musset, R., 1953. Etude de la végétation du littoral septentrional de Tunisie : typologie, syntaxonomie et éléments d'aménagement (Thèse de doctorat). Aix Marseille III.

218. Nain, Z., Karim, M.M., Sen, M.K., Adhikari, U.K., 2020. Structural basis and designing of peptide vaccine using PE-PGRS family protein of *Mycobacterium ulcerans*-An integrated vaccinomics approach. *Mol Immunol* 120, 146–163. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.02.009>

219. Nasr, E., Teleb, S., 2020. Effect of Varroa infestation on the morphological and histological structure of the hypopharyngeal glands of *Apis mellifera* workers. *Journal of American Science* 10, 69–78.

220. Nedji, N., 2015. Efficacité de quelques acaricides sur le Varroa et effets secondaires chez *Apis mellifera intermissa*: Aspects toxicologique, physiologique et biochimique.

221. Noireterre, P., 2011. Biology and pathogenicity of the *Varroa destructor*. *Bulletin des G.T.V.* 101–106.

222. Nouri, A., Shafaghatlonbar, A., 2016. Chemical constituents and antioxidant activity of essential oil and organic extract from the peel and kernel parts of *Citrus japonica* Thunb. (kumquat) from Iran. *Nat Prod Res* 30, 1093–1097. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1101692>
223. Omar, R., 2017. Effect of Varroa Infestation on the Development of Body Weight and some Reproductive Organs of Honeybee Drones, *Apis mellifera* L. *Middle East Journal of Applied* 7, 272–279.
224. Organisation météorologique mondiale OMM (World Meteorological Organisation, WMO), n.d.
225. Oudemans, A.C., 1904. On a new genus and species of parasitic Acari. Notes from the Leyden Museum. 24, 216–222.
226. Özüçli, M., Baykalır, Y., 2024. Evaluation of Efficiency of Thyme Oil, *Cinnamomum verum*, *Melaleuca viridiflora*, *Syzygium aromaticum* Essential Oils, and Amitraz for Varroa Mite (Acari: Varroidae) Control in Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies Under Field Conditions. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2024.31898>
227. Paillot, A., Kirkor, S., Granger, A.M., 1949. *L'Abeille, anatomie, maladies, ennemis*, Trevous. ed.
228. Pal, S., Kumar, V., Kundu, B., Bhattacharya, D., Preethy, N., Reddy, M.P., Talukdar, A., 2019. Ligand-based Pharmacophore Modeling, Virtual Screening and Molecular Docking Studies for Discovery of Potential Topoisomerase I Inhibitors. *Comput Struct Biotechnol J* 17, 291–310. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.02.006>
229. Paterson, P.D., 2006. *L'apiculture*, Quae. ed.
230. Paugam, R., 2008. Master de Chimie – 1ère année ORSAY UE CHIM 403.
231. Peck, D.T., Seeley, T.D., 2019. Mite bombs or robber lures The roles of drifting and robbing in *Varroa destructor* transmission from collapsing honey bee colonies to their neighbors. *PLOS ONE* 14, e0218392. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218392>

232. Péguy, C.P., 1970. Précis de Climatologie.
233. Pérez-Santiago, G., Otero-Colina, G., Mota-Sanchez, D., Ramírez Guzmán, M.E., Vandame, R., 2000. Comparing Effects of Three Acaricides on *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Using Two Application Techniques. Florida Entomologist 83. <https://doi.org/10.2307/3496722>
234. Pibiri, M.-C., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. <https://doi.org/10.5075/epfl-thesis-3311>
235. Pieri, G., n.d. Je choisis mon huile essentielle, mon pharmacien m'aide.
236. Poirot, B., 2023. *Varroa destructor* resistance to acaricides : Current situation in France, impact on treatment efficacy and outlook.
237. Praloran, 1971.
238. Quzel, Santa, 1962.
239. Rader, R., Howlett, B., Cunningham, S., Westcott, D., Newstrom-Lloyd, L., Walker, M., Teulon, D., Edwards, W., 2009. Alternative pollinator taxa are equally efficient but not as effective as the honeybee in a mass flowering crop. Journal of Applied Ecology 46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01700.x>
240. Ramade, F., 1984. Elément d'écologie : écologie fondamentale, Auckland, McGraw-Hill. ed.
241. Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbronson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., vanEngelsdorp, D., 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. Proc Natl Acad Sci U S A 116, 1792–1801. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>
242. Reeds, P.J., 2000. Dispensable and indispensable amino acids for humans. J Nutr 130, 1835S–40S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.7.1835S>
243. Reuter, N., Dejaegere, A., Maigret, B., Karplus, M., 2000. Frontier Bonds in QM/MM Methods: A Comparison of Different Approaches. Journal of Physical

- Chemistry A - J PHYS CHEM A 104. <https://doi.org/10.1021/jp9924124>
244. Rial-Otero, R., Gaspar, E.M., Moura, I., Capelo, J.L., 2007. Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview. *Talanta* 71, 503–514. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.05.033>
 245. Richardson, J.A., 1999. Potpourri hazards in cats — Toxicology Brief December.
 246. Rinkevich, F.D., 2020. Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the Varroa Mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLOS ONE* 15, e0227264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227264>
 247. Riondet, J., 2013. Le rucher durable, Ulmer 8, rue Blanche 75009 Paris. ed. Paris.
 248. Riondet, J., Fayolle, S., Adell, G., 2013. Le rucher durable Guide pratique de l'apiculture d'aujourd'hui, ULMER. ed. Paris.
 249. Ritter, W., Ruttner, F., 1981. Development of *Varroa jacobsoni* populations in Hessen. *Apidologie* 73–75.
 250. Riva, C., Suzanne, P., Charpentier, G., Dulin, F., Halm-Lemeille, M.-P., Sopkova-de Oliveira Santos, J., 2019. *In silico* chemical library screening and experimental validation of novel compounds with potential varroacide activities. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 160, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.05.012>
 251. Robert, P., 2010. qu'est ce que l'inhibition.
 252. Rodríguez-Dehaibes, S.R., Otero-Colina, G., Sedas, V.P., Jiménez, J.A.V., 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, Mexico. *Journal of Apicultural Research* 44, 124–125. <https://doi.org/10.1080/00218839.2005.11101162>
 253. Romanchuk, L.D., Lisohurska, O.V., Furman, S.V., 2020. Natural spruce extract is an effective remedy to fight against varroatosis in organic beekeeping. *Ukrainian Journal of Ecology* 10, 38–41. https://doi.org/10.15421/2020_254
 254. Roux, F., 1991. Orages (Les) : Météorologie des grains, de la grêle et des éclairs,

DOCUMENTS PAYOT. PAYOT. PARIS.

255. Sabri, A., Benchaabane, S., Tarek, D., Smagghe, G., Wahida, L., 2024. Assessment of Efficacy of Algerian Propolis against the Parasitic Mite *Varroa destructor* and Safety for Honey Bees by Spray Treatment. *Insects* 15, 75. <https://doi.org/10.3390/insects15010075>
256. Santos Junior, C.M., Silva, S.M.C., Sales, E.M., Velozo, E. da S., dos Santos, E.K.P., Canuto, G.A.B., Azeredo, F.J., Barros, T.F., Biegelmeyer, R., 2023. Coumarins from Rutaceae: Chemical diversity and biological activities. *Fitoterapia* 168, 105489. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105489>
257. Schurhammer, R., Varnek, A., n.d. Introduction à la Modélisation Moléculaire. LC Chimie.
258. Seltzer, P., 1946. - Le climat de l'Algérie. Inst. Météor. Et de Phys- Du globe. Alger.
259. Smith, F.G., 2003. Beekeeping in the tropics, Northern Bee Books, Hebden Bridge, Royaume-Uni.
260. Stoddard, S.V., Stoddard, S.D., Oelkers, B.K., Fitts, K., Whalum, Kellen, Whalum, Kaylah, Hemphill, A.D., Manikonda, J., Martinez, L.M., Riley, E.G., Roof, C.M., Sarwar, N., Thomas, D.M., Ulmer, E., Wallace, F.E., Pandey, P., Roy, S., 2020. Optimization Rules for SARS-CoV-2 Mpro Antivirals: Ensemble Docking and Exploration of the Coronavirus Protease Active Site. *Viruses* 12, 942. <https://doi.org/10.3390/v12090942>
261. Straub, P., 2007. L'abeille, sentinelle écologique [WWW Document]. Futura. URL <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/zoologie-abeille-sentinelle-ecologique-684/> (accessed 5.17.24).
262. Stringaro, A., Colone, M., Angiolella, L., 2018. Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha* spp. Essential Oils. *Medicines (Basel)* 5, 112. <https://doi.org/10.3390/medicines5040112>
263. Stussi, I., Henry, F., Moser, P., Danoux, L., Jeanmaire, C., Gillon, V., Benoit, I.,

- Charrouf, Z., Pauly, G., 2005. How Ecological Farming, Fair Trade and Sustainability Can Drive the Reasearch for New Cosmetic Active Ingredients. SOFW J. 131.
264. Sutour, S., 2010. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats (phdthesis). Université de Corse.
265. Sutour, S., Lurob, F., Bradesi, P., Casanova, J., Tomi, F., 2016. Chemical Composition of the Fruit Oils of Five *Fortunella* Species Grown in the Same Pedoclimatic Conditions in Corsica (France). Nat Prod Commun 11, 259–262.
266. Tastan Bishop, O., A.Ö, Beer, D., Joubert, F., 2008. Protein homology modeling and its use in South Africa. South African Journal of Science 104, 2–6.
267. Teissedre, P.L., Waterhouse, .L., 2000. Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins by Phenolic Substances in Different Essential Oil Varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry [WWW Document]. URL <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1130723> (accessed 10.30.24).
268. Thompson, H., Brown, M., Ball, R., Bew, M., 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. Apidologie 33, 357–366. <https://doi.org/10.1051/apido:2002027>
269. Tian, S., Wang, J., Li, Y., Li, D., Xu, L., Hou, T., 2015. The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. Adv Drug Deliv Rev 86, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.01.009>
270. Tiwari, S., Shishodia, S.K., Shankar, J., 2019. Docking analysis of hexanoic acid and quercetin with seven domains of polyketide synthase A provided insight into quercetin-mediated aflatoxin biosynthesis inhibition in *Aspergillus flavus*. 3 Biotech 9, 149. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1675-y>
271. Touati, I., Mahmoudi, Z., 2017. Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* et de *Thymus numidicus* sur la croissance de l'oïdium sur les cultures maraichères. (Mémoire de Master). Université de Boumerdes, Algérie.
272. Toullec, A.N.K., 2008. Abeille noire, *Apis mellifera*, historique et sauvegarde.

(Thèse de doctorat). Faculté de médecine de CRETEIL.seine Martine.

273. Traynor, K., Mondet, F., de Miranda, J., Techer, M., Kowallik, V., Oddie, M., Chantawannakul, P., McAfee, A., 2020. *Varroa destructor*: A Complex Parasite, Crippling Honeybees Worldwide (preprint). BIOLOGY. <https://doi.org/10.20944/preprints202002.0374.v1>

274. Traynor, K.S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., vanEngelsdorp, D., 2016. Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie* 47, 325–347. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0431-0>

275. Treilles, M., 2002. Utilisation d’huiles minérales dans la lutte contre *Varroa destructor* (anderson et trueman, 2000) parasite de l’abeille [WWW Document].

276. Trouiller, J., 1998. Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. *Apidologie* 29, 537–546. <https://doi.org/10.1051/apido:19980606>

277. Tundis, R., Bonesi, M., Sicari, V., Pellicanò, T.M., Tenuta, M.C., Leporini, M., Menichini, F., Loizzo, M.R., 2016. *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.: Chemical composition, antioxidant properties and hypoglycaemic activity via the inhibition of α -amylase and α -glucosidase enzymes. *Journal of Functional Foods* 25, 477–485. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.034>

278. Valdés-Tresanco, M., Valdés-Tresanco, M., Valiente, P., Moreno Frias, E., 2021. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *Journal of Chemical Theory and Computation* 17. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00645>

279. vanEngelsdorp, D., Meixner, M.D., 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, S80–S95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.011>

280. *Varroa underwoodi* Delfinado-Baker & Aggarwal, 1987 [WWW Document], n.d. URL <https://www.gbif.org/es/species/181280453> (accessed 9.30.23).

281. Vilarem, C., Piou, V., Vogelweith, F., Vétillard, A., 2021. *Varroa destructor* from the Laboratory to the Field: Control, Biocontrol and IPM Perspectives—A Review. *Insects* 12, 800. <https://doi.org/10.3390/insects12090800>
282. Vladimir Alexandrovich, K., 2003. Phenylpropanoids from Medicinal Plants: Distribution, Classification, Structural Analysis, and Biological Activity. *Chemistry of Natural Compounds* 39, 123–153. <https://doi.org/10.1023/A:1024876810579>
283. Vuorinen, A., Schuster, D., 2015. Methods for generating and applying pharmacophore models as virtual screening filters and for bioactivity profiling. *Methods* 71, 113–134. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.10.013>
284. Wallner, K., 1999. Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* 30, 235–248. <https://doi.org/10.1051/apido:19990212>
285. Wang, R., Lai, L., Wang, S., 2002. Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction. *J Comput Aided Mol Des* 16, 11–26. <https://doi.org/10.1023/a:1016357811882>
286. Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., Liu, L., li, Y., Liu, Z., Wang, H., Zeng, H., He, H., 2006. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A* 1102, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.10.032>
287. Waring, A., 2012. Abeilles tout savoir sur l'apiculture.
288. Warren, G.L., Andrews, C.W., Capelli, A.-M., Clarke, B., LaLonde, J., Lambert, M.H., Lindvall, M., Nevins, N., Semus, S.F., Senger, S., Tedesco, G., Wall, I.D., Woolven, J.M., Peishoff, C.E., Head, M.S., 2006. A critical assessment of docking programs and scoring functions. *J Med Chem* 49, 5912–5931. <https://doi.org/10.1021/jm050362n>
289. Wegener, J., Ruhnke, H., Scheller, K., Mispagel, S., Knollmann, U., Kamp, G., Bienefeld, K., 2016. Pathogenesis of varroosis at the level of the honey bee (*Apis mellifera*) colony. *J Insect Physiol* 91–92, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.06.004>

290. Wendeling, S., 2012. *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000), Un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction (Thèse pour le Doctorat vétérinaire). Faculté de Créteil.
291. Wilkinson, D., Smith, G.C., 2002. A model of the mite parasite, *Varroa destructor*, on honeybees (*Apis mellifera*) to investigate parameters important to mite population growth. *Ecological Modelling* 148, 263–275. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(01\)00440-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(01)00440-9)
292. Wolfgang, W., 2018. Traitement anti-varroa par hyperthermie. ECODESIGN.
293. Yang, X., Cox-Foster, D., 2007. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology* 134, 405–412. <https://doi.org/10.1017/S0031182006000710>
294. Yang, X., Cox-Foster, D.L., 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 7470–7475. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501860102>
295. Young, D.C., 2001. Frontmatter and Index, in: *Computational Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. i–xxiv. https://doi.org/10.1002/0471220655.fmatter_indsub
296. Zanni, V., Değirmenci, L., Annoscia, D., Scheiner, R., Nazzi, F., 2018. The reduced brood nursing by mite-infested honey bees depends on their accelerated behavioral maturation. *J Insect Physiol* 109, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2018.06.006>
297. Zekri, A., 2021. Une étude computationnelle des relations structure activité d'un ensemble de composés à visées thérapeutiques (doctoral). Université de mohamed kheider biskra.
298. Zeng, Z., Mao, Z., Liu, Y., Chen, M., Xu, Z., Yan, X., Xu, G., Zhu, W., Liu, H.,

- Ji, Y., 2023. Functional substances and therapeutic potential of kumquat essential oil. *Trends in Food Science & Technology* 138, 272–283. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.003>
299. Zhihua, L., Y., Yang, W., Dong, Q., Liu, R., Wang, J., Pang, X., Xia, X., Zhu, S., Liu, Z., Shen, Z., Xiao, Z., Liu, Y., 2019. Investigation on the Enzymatic Profile of Mulberry Alkaloids by Enzymatic Study and Molecular Docking. *Molecules*, 24: 1776

ملخص

Varroa destructor هو أحد العث الطفيلي الرئيسي الذي يصيب النحل، *Apis mellifera*. الهدف من دراستنا هو استبدال المبيدات الكيميائية بعلاجات طبيعية من أجل السيطرة على هذه العث من خلال تثبيط بروتين D-Glucose phosphate. وللقام بذلك، استخدمنا النمذجة الجزيئية لاختيار أفضل مثبط مستخرج من الزيوت الأساسية للنباتات من عائلة Rutacée. أعطى β -Eudesmol المستخرج من الزيت العطري لأوراق *Fortunella* ارتباطاً جزيئياً جيداً وكانت قيمة النتيجة -6,9 كيلو كالوري/مول. Amitraz هو المبيد الكيميائي الأكثر استعمالاً، ولكن العث الطفيل طور مقاومة لهذا العلاج كما أنه يبقى في منتجات الخلية. أعطى المركب (E)-D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valérianole, nérolidol رابطة هيدروجينية. أعطى المركب D-Glucose 1-phosphate/ α -eudesmol رابطين هيدروجينيتين؛ في حين أن المركب D-Glucose 1-phosphate/Amitraz لم يعطي أي روابط هيدروجينية. أظهرت دراسة محاكاة الديناميكية الجزيئية نتائج جيدة لـ β -Eudesmol, (E)-nérolidol, α -eudesmol. أظهر مركب D-Glucose 1-phosphate/ β -Eudesmol اتجاهًا مستقرًا على مدار وقت المحاكاة. يكشف تحليل RMSD أن مركب D-Glucose 1-phosphate/ β -Eudesmol يظهر أعلى مستوى من الاستقرار بمُتوسط 5,54 Å مقارنةً بمركب D-Glucose 1-phosphate/Amitraz الذي يظهر بمُتوسط 5,52 Å. شكل المركب Schottenol المستخرج من الزيت الأساسي لشجرة Argan مركبًا مستقرًا مع بروتين Cytochrome c oxidase. بعد العلاج لمدة أسبوعين باستخدام زيت *Fortunella* العطري، أحصينا 243 من *Varroa* الميت. وبمقارنة هذا الرقم مع عدد الطفيليات التي سقطت بشكل طبيعي، نؤكد فعالية علاجاتنا الطبيعية للسيطرة على هذا الطفيلي.

كلمات مفتاحية: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, النمذجة الجزيئية، D-glucose 1-phosphate، الزيوت الأساسية.

Résumé

Varroa destructor est l'un des principaux acarions ectoparasites des abeilles domestiques, *Apis mellifera*. Le but de notre étude est de remplacer les acaricides chimiques par des traitements naturels afin de contrôler cet acarien en inhibant la protéine D-Glucose 1-phosphate. Pour ce faire, nous avons utilisé la modélisation moléculaire pour élire le meilleur inhibiteur extrait des huiles essentielles des plantes de la famille des Rutacées. Le β -Eudesmol extrait de l'huile essentielle des feuilles du genre *Fortunella* a donné un bon résultat du docking moléculaire. La valeur de score était de -6,9 Kcal/mol. L'Amitraz est l'acaricide le plus utilisé mais l'acarien ectoparasite a développé une résistance contre ce traitement et il persiste dans les produits de la ruche. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valérianole, (E)-nérolidol a donné une liaison hydrogène. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol a donné deux liaisons hydrogènes ; tandis que le complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz n'a donné aucune liaison hydrogène. L'étude de simulation de dynamique moléculaire a montré de bons résultats pour le β -Eudesmol, (E)-nérolidol, α -eudesmol. Le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol a montré une tendance stable au cours du temps de simulation. L'analyse RMSD révèle que le complexe D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol présente la plus grande stabilité avec une moyenne de 5,54 Å par rapport au complexe D-Glucose 1-phosphate / Amitraz qui présente une moyenne de 5,52 Å. Le Schotténol extrait de l'huile essentielle de l'Arganier a formé un complexe stable avec la protéine Cytochrome c oxydase. Suite à un traitement de deux semaines avec l'huile essentielle *Fortunella* nous avons compté 243 Varroas morts. En comparant ce chiffre avec le nombre de parasite tombé naturellement nous confirmons l'efficacité de notre traitement naturelle pour le contrôle de ce parasite.

Mots clés : *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, modélisation moléculaire, D-Glucose 1-phosphate, huiles essentielles.

Abstract

Varroa destructor is one of the major ectoparasite mite of honey bees, *Apis mellifera*. The aim of our study is to replace the chemical acaricides by natural treatments in order to control this mite by inhibiting the protein D-Glucose 1-phosphate. To accomplish this, we utilised molecular modelling to elect the best inhibitor extract from essential oils from plants of the Rutaceae family. β -Eudesmol extracted from the essential oil of the leaves of the genus *Fortunella* gave a good molecular docking results. The score value was -6.9 Kcal/mol. Amitraz is the most useful acaricide but the ectoparasite mite developed a resistance against this treatment and it persists in honeybee products. The complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol, Valerianol, (E)-nérolidol gave one hydrogen bond. The complex D-Glucose 1-phosphate / α -eudesmol gave two hydrogen bonds; while the complex D-Glucose 1-phosphate / Amitraz gave none hydrogen bond. The molecular dynamics simulation study showed good result for the β -Eudesmol, (E)-nérolidol, α -eudesmol. The complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol showed stable trend over the simulation time. The RMSD analysis reveals that complex D-Glucose 1-phosphate / β -Eudesmol exhibits the highest stability with an average of 5.54 Å compared to the complex D-Glucose 1-phosphate / Amitraz which shows an average of 5.52 Å. Schottenol extracted from the essential oil of Argan tree formed a stable complex with the protein Cytochrome c oxidase. Following a two-week treatment with *Fortunella* essential oil, we counted 243 dead Varroa mites. By comparing this number with the number of parasites that fell naturally, we confirm the effectiveness of our natural treatment for controlling this parasite.

Key words: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, molecular modelling, D-Glucose 1-phosphate, essential oils.