

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS - MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

THESE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

Présentée par

BOUZOUINA Mohammed

Influence des composés phénoliques des feuilles de *Citrus*, sur le développement des larves de *Phyllocnistis citrella* Staint. (Lepidoptera ; Gracillariidae) dans un milieu semi contrôlé.

Soutenue le 10 septembre 2013, devant le jury composé de

BOUDEROUA Kaddour	Professeur	Président	Univ. Mostaganem
MEHDADI Zoheir	Professeur	Examineur	Univ. Sidi Bel Abbès
LATRECHE Ali	Professeur	Examineur	Univ. Sidi Bel Abbès
LOTMANI Brahim	Professeur	Examineur	Univ. Mostaganem
BEKADA Ahmed Mohammed Ali	MC (A)	Examineur	C. U. Relizane
BERKANI Abdallah	Professeur	Directeur de thèse	Univ. Mostaganem

Année universitaire : 2013/2014

Remerciements

Mes remerciements vont à Monsieur le Professeur Abdallah BERKANI, mon directeur de thèse, et lui exprime toute mon amicale et immense reconnaissance pour ses qualités pédagogiques et l'enthousiasme communicatif dont il sait faire preuve. C'est à la fois un privilège et une expérience exceptionnelle d'avoir pu bénéficier de ses conseils.

Je remercie également Mr Kaddour BOUDEROUA, Professeur au département d'Agronomie, faculté des sciences de la nature et de la vie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem) pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

Il m'est très agréable de remercier Messieurs Zoheir MEHDADI et Ali LATRECHE, professeurs au département de Biologie à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université Djilali LYABES (Sidi Bel Abbès), qui me font le grand honneur de lire et d'examiner cette thèse.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Mr Brahim LOTMANI, Professeur au département de Biotechnologie, faculté des sciences de la nature et de la vie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem), qui m'a appuyé et conseillé, des conseils fructueux qui ont contribué à la bonne marche de ce travail. Mais également pour avoir accepté de juger ce travail et pour sa présence dans le jury.

J'exprime ma reconnaissance à Mr Ahmed BEKADA, Maître de conférences au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, centre universitaire de Relizane, que je remercie vivement pour l'honneur qu'il me fait pour lire et juger mon travail.

Je tiens aussi à souligner l'aide précieuse de Mme Soumeya AMEUR, pour son soutien et pour le temps qu'elle m'a consacré pour m'aider dans les analyses

chromatographiques et le dépouillement des résultats. Merci pour sa patience, sa collaboration et son appui à la réalisation de ce manuscrit.

Cette étude a pu être réalisée grâce à l'appui et à la collaboration de Mme Nesrine AMARI et Melle Malika BOUALEM, enseignantes au département d'Agronomie. Qu'elles trouvent ici les remerciements les plus particuliers.

Mon travail doit beaucoup aux techniciens des laboratoires qui m'ont aidé et soutenu. En particulier, Mrs. Abdelkader SOUANE, Mohamed BELKHALFA, M'hamed BELEBNA et Melle Nadia KETROUSSI.

Mohammed BOUZOUINA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

La mémoire de mon père

A ma chère mère

A mon épouse

A mes enfants (Asmaa, Abdelkader, Kheira et Fahd Mohamed Zyad

A mes frères

Toutes mes sœurs.

----Table des matières----

Introduction générale	1
Synthèse bibliographique	2
1- Les agrumes	4
I- Historique et origine	4
II- Diffusion des agrumes	4
II-1- Dans le monde	4
II-2- En Algérie	6
III- Description et classification des agrumes	6
III-1- Description	6
III-2- Classification	6
III-2-1- Les orangers doux (<i>Citrus sinensis</i>)	7
III-2-2- Les clémentiniers (<i>C. clementina</i>)	7
III-2-3- Les bigaradiers (<i>C. aurantium</i>)	7
IV- Cycle végétatif des agrumes	7
2- <i>Phyllocnistis citrella</i>	9
I- Introduction	9
II- Description morphologique	9
II-1- Œuf	9
II-2- Larves	10
II-3- Chrysalide	10
II- 4- Adulte	11
III- Systématique	11
IV- Plantes hôtes	12
V- Bio-écologie	12
VI- Dégâts	14
3- Les composés phénoliques	17
I- Généralités	17
II- Les acides phénoliques	17
II-1- Biosynthèse	18
III- Les Flavonoïdes	19
III-1- Généralités	19
III-2- Distribution	20

III-3- Biosynthèse.....	20
III-4- Structure.....	22
III-5- Classification.....	22
III-5-1- Flavanones.....	22
III-5-2- Flavones	23
III-5-3- Flavonols.....	25
IV- Les anthocyanes.....	25
V- Les tannins.....	26

Etude expérimentale

Etude expérimentale I : Impact de l'extrait phénolique des Citrus sur l'éthologie des larves de <i>Phyllocnistis citrella</i>	29
I- Introduction.....	29
II- Site et conditions d'échantillonnage.....	31
III- Matériels et méthodes.....	32
III-1- Matériels.....	32
III-2- Méthodes.....	32
III-2-1- Extraction et préparation de la solution phénolique.....	32
III-2-2- Préparation du support gélosé (milieu de culture).....	32
III-2-3- Essais de laboratoire.....	33
III-2-3-1- Traitement par pulvérisation.....	33
III-2-3-2- Traitement par irrigation.....	34
III-2-4- Sensibilité larvaire.....	34
III-2-5- Prise alimentaire.....	34
III-2-6- Evolution biologique des larves.....	34
III-2-7- Analyses statistiques.....	35
IV- Résultats.....	36
IV-1- Mortalité larvaire.....	36
IV-1-1- Orangers : <i>Citrus sinensis</i>	36
IV-1-1-1- Traitement par la pulvérisation.....	36
VI-1-1-1-1- Stade L ₁	36
IV-1-1-1-2- Stade L ₂	36
IV-1-1-1-3- Stade L ₃	37
IV-1-1-2- Traitement par irrigation.....	37
IV-1-1-2-1- Stade L ₁	37

IV-1-1-2-2- Stade L ₂	38
IV-1-1-2-3- Stade L ₃	38
IV-1-2- Clémentiniers : <i>Citrus clementina</i>	41
IV-1-2-1- Traitement par la pulvérisation.....	41
IV-1-2-1-1- Stade L ₁	41
IV-1-2-1-2- Stade L ₂	41
IV-1-2-1-3- Stade L ₃	41
IV-1-2-2- Traitement par irrigation.....	42
IV-1-2-2-1- Stade L ₁	42
IV-1-2-2-2- Stade L ₂	42
IV-1-2-2-3- Stade L ₃	43
IV-2- Comparaison entre les méthodes de traitements.....	46
IV-2-1- Orangers : <i>Citrus sinensis</i>	46
IV-2-2- Clémentiniers : <i>Citrus clementina</i>	49
IV-3- Sensibilité des larves de <i>P. citrella</i> (L ₁ , L ₂ et L ₃).....	51
IV-3-1- Orangers : <i>Citrus sinensis</i>	51
IV-3-2- Clémentiniers : <i>Citrus clementina</i>	55
IV-4- Comportement des larves.....	58
IV-4-1- Orangers : <i>Citrus sinensis</i>	58
IV-4-2- Clémentiniers : <i>Citrus clementina</i>	59
IV-5- Evolution biologique des larves.....	61
V- Discussion.....	63
Etude expérimentale II : Etude de la qualité chimique des feuilles de <i>Citrus</i>	66
I- Introduction.....	66
II- Site d'échantillonnage.....	68
III- Matériel et Méthodes.....	68
III-1- Echantillonnage (Matériel).....	68
III- 2- Méthodes.....	69
III-2-1- Evaluation des taux de contamination de <i>Phyllocnistis citrella</i>	69
III-2-2- Analyses chimiques.....	69
III-2-2-1- Quantification des composés phénoliques.....	69
III-2- 2-1-1- Les méthodes spectrophotométriques.....	69
III-2- 2-1-2- Extraction et préparation de l'extrait méthanolique.....	69

III-2- 2-1-3- Dosage des composés phénoliques totaux.....	70
III-2- 2-1-4- Analyse par HPLC.....	70
III-2-2-2- Carbone total.....	71
III-2-2-2-1- Matière sèche.....	71
III-2-2-2-2- Matière minérale.....	72
III-2-2-3- Azote total.....	72
III-2-2-4- Analyses statistiques.....	74
IV- Résultats.....	75
IV-1- Evolution de l'activité de <i>P. citrella</i>	75
IV-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	75
IV-1-2- Pousses rebelles.....	75
IV-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	75
IV-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	76
IV-2- Teneur en eau.....	78
IV-2-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	78
IV-2-2- Pousses rebelles.....	78
IV-2-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	78
IV-2-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	79
IV-3- Carbone total.....	81
IV-3-1- Evolution chronologique.....	81
IV-3-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	81
IV-3-1-2- Pousses rebelles.....	81
IV-3-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	81
IV-3-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	82
IV-3-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève.....	82
IV-3-3- Relation entre le taux de carbone et le taux de contamination.....	84
IV-3-3-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	84
IV-3-3-2- Pousses rebelles.....	84
IV-3-3-3- Deuxième poussée de sève (Pousses d'été).....	84
IV-3-3-4- Troisième poussée de sève (Pousses d'automne).....	85
IV-3-4- Relation entre les teneurs moyennes de carbone total et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève).....	85
IV-3-5- Comparaison entre espèces.....	86

IV- 4- Azote total.....	88
IV-4-1- Evolution chronologique.....	88
IV-4-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	88
IV-4-1-2- Pousses rebelles.....	88
IV-4-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	88
V-4-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	89
IV-4-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève.....	89
IV-4-3- Relation entre le taux d'azote total et le taux de contamination.....	91
IV-4-3-1- Première poussée de sève.....	91
IV-4-3-2- Pousses rebelles.....	91
IV-4-3-3- Deuxième poussée de sève.....	91
IV-4-3-4- Troisième poussée de sève.....	91
IV-4-4- Relation entre les teneurs moyennes d'azote total et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève).....	91
IV-4-5- Comparaison entre espèces.....	92
IV-5- Balance C/N.....	94
IV-5-1- Evolution chronologique.....	94
IV-5-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	94
IV-5-1-2- Pousses rebelles.....	94
IV-5-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	94
IV-5-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	95
IV-5-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève.....	96
IV-5-3- Relation entre le rapport C/N et les taux des contaminations.....	97
IV-5-3-1- Première poussée de sève.....	97
IV-5-3-2- Pousses rebelles.....	97
IV-5-3-3-Deuxième poussée de sève.....	97
IV-5-3-4- Troisième poussée de sève.....	97
IV-5-4- Relation entre les rapports moyens C/N et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève).....	97
IV-5-5- Comparaison entre espèces.....	98
IV-6- Composés phénoliques totaux.....	100
IV-6-1- Evolution chronologique.....	100
IV-6-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	100

IV-6-1-2- Pousses rebelles.....	101
V-6-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	101
IV-6-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	101
IV-6-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève.....	101
IV-6-3- Relation entre la teneur en composés phénoliques totaux et le taux de contamination.....	104
IV-6-3-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	104
IV-6-3-2- Pousses rebelles.....	104
IV-6-3-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	104
IV-6-3-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	104
IV-6-4- Relation entre les taux moyens des contaminations et les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux (entre poussées de sève).....	105
IV-6-5- Dosage et caractérisation des composés phénoliques par HPLC-DAD.....	107
IV-6-6- Relation entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'équilibre C/N.....	116
IV-6-6-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps).....	116
IV-6-6-2- Pousses rebelles.....	116
IV-6-6-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été).....	116
IV-6-6-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne).....	116
IV-6-7- Relation entre les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux et les équilibres moyens C/N (entre poussées de sève).....	116
V- Discussion.....	119
Conclusions et perspectives.....	127
Références bibliographiques.....	130
Annexes.....	151

----Liste des abréviations----

L₁	:	Premier stade larvaire
L₂	:	Deuxième stade larvaire
L₃	:	Troisième stade larvaire
L₄	:	Pré-nymphe
Ny.	:	Nymphe
PS₁	:	Première poussée de sève
PR	:	Pousses rebelles
PS₂	:	Deuxième poussée de sève
PS₃	:	Troisième poussée de sève
Tém.	:	Témoin
Pul.	:	Pulvérisation
Irrig.	:	Irrigation
C	:	Carbone
N	:	Azote
C/N	:	Rapport (carbone, azote)
MT	:	Millions de tonnes
qx	:	quintaux
Kg	:	Kilogramme
gr	:	gramme
mg	:	milligramme
µg	:	microgramme
ml	:	millilitre
mm	:	millimètre
H	:	Heures
mn	:	minute
MO	:	Matière organique

MF : Matière fraîche
MS : Matière sèche
MM : Matière minérale

----Liste des figures----

Figure 1 : Production totale d'agrumes dans le monde de 2005 à 2011, en millions de tonnes (F.A.O., 2012).....	5
Figure 2 : Evolution de la production mondiale d'agrumes par espèces citricoles de 2005 à 2011, en millions de tonnes (F.A.O., 20012).....	5
Figure 3 : Nymphes de <i>Phyllocnistis citrella</i> : A = femelle, B = mâle (Jacas et Garrido, 1996).....	16
Figure 4 : Biosynthèse des flavonoïdes.....	21
Figure 5 : squelette de base des flavonoïdes.....	22
Figure 6 : Quelques flavanones aglycones et leurs glycosides respectifs.....	23
Figure 7 : Flavones méthoxylés.....	24
Figure 8 : Structure chimique de la naringénine.....	25
Figure 9 : Structure chimique du kampférol.....	25
Figure 10 : Le cation flavylum (2-phényl-1-benzopyrilium).....	26
Figure 11 : Structure des tannins hydrolysables et leurs acides associés.....	28
Figure 12 : A) Unité de base des tannins condensés (R1=R2=OH, R3=H :-Epicathéchine ; R2= Gallolyle : Epicathéchine gallate) ; B) Structure chimique des monomères constitutifs des tannins condensés.....	28
Figure 13 : Carte de situation de la station d'étude n° 01 (Ferme expérimentale ex ITA). Echelle 1/30000. Image satellitaire de Google Earth.....	31
Figure 14 : Mortalité cumulée des larves du premier stade (L ₁) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	39
Figure 15 : Mortalité cumulée des larves du deuxième stade (L ₂) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	39
Figure 16 : Mortalité cumulée des larves du troisième stade (L ₃) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	39
Figure 17 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du premier stade (L ₁) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	40
Figure 18 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du deuxième stade (L ₂) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	40

Figure 19 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du troisième stade (L ₃) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).....	40
Figure 20 : Mortalité cumulée des larves du premier stade (L ₁) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	44
Figure 21 : Mortalité cumulée des larves du deuxième stade (L ₂) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	44
Figure 22 : Mortalité cumulée des larves du troisième stade (L ₃) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	44
Figure 23 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du premier stade (L ₁) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	45
Figure 24 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du deuxième stade (L ₂) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	45
Figure 25 : Mortalité, par tranches d'heures, des larves du troisième stade (L ₃) de <i>P. citrella</i> traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).....	45
Figure 26 : Evolution de la mortalité globale de <i>Phyllocnistis citrella</i> (tous stades confondus), observée 6, 18, 24, 48 et 72h après application de l'extrait phénolique (orangers).....	48
Figure 27 : Mortalités moyennes par méthode de traitement (tous stades confondus). Les Moyennes suivies des lettres différentes sont significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $P<0,05$) (orangers).....	48
Figure 28 : Evolution de la mortalité globale de <i>Phyllocnistis citrella</i> (tous stades confondus), observée 6, 18, 24, 48 et 72h après application de l'extrait phénolique (clémentiniers).....	50
Figure 29 : Mortalités moyennes par méthode de traitement (tous stades confondus). Les Moyennes suivies des lettres différentes sont significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $P<0,05$) (clémentiniers).....	50
Figure 30 : Efficacité de la solution phénolique appliquée par les méthodes de pulvérisation et irrigation sur les larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> (orangers).....	53
Figure 31 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> (toutes méthodes confondues) (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P<0,05$).....	53
Figure 32 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> traitées par les méthodes d'irrigation et de pulvérisation séparément (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P<0,05$).....	54
Figure 33 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> après 72h (toutes méthodes confondues) (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P<0,05$).....	54

Figure 34 : Efficacité de la solution phénolique appliquée par les méthodes de pulvérisation et irrigation sur les larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> (clémentiniers).....	34
Figure 35 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> (toutes méthodes confondues) (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).....	35
Figure 36 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> traitées par les méthodes d'irrigation et de pulvérisation séparément (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).....	57
Figure 37 : Sensibilités moyennes des larves (L ₁ , L ₂ et L ₃) de <i>Phyllocnistis citrella</i> après 72h (toutes méthodes confondues) (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).....	57
Figure 38 : Effet comparatif de l'extrait phénolique sur la prise alimentaire des larves de <i>P. citrella</i> , 6h après traitement (A = orangers et B = clémentiniers).....	60
Figure 39 : Carte de situation de la station d'étude n° 02 (exploitation privée). Echelle 1/30000. Image satellitaire de Google Earth.....	68
Figure 40 : Evolution chronologique des taux de contamination de <i>Phyllocnistis citrella</i> (A = orangers ; B = clémentiniers).....	77
Figure 41 : Moyennes des taux de contamination de <i>Phyllocnistis citrella</i> , par poussées de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).....	77
Figure 42 : Evolution chronologique de la teneur en eau (A = orangers ; B = clémentiniers).....	80
Figure 43 : Moyennes des teneurs en eau, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-keuls, $P \leq 0,05$).....	80
Figure 44 : Evolution chronologique du taux de carbone (A = orangers ; B = clémentiniers).....	83
Figure 45 : Relation entre les taux de carbone et les taux de contamination (A = orangers ; B = clémentiniers).....	87
Figure 46 : Relation entre les taux de carbone moyens et les taux de contamination moyens, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).	87
Figure 47 : Evolution chronologique du taux d'azote (A = orangers ; B = clémentiniers).....	90
Figure 48 : Relation entre les taux d'azote et les taux de contamination (A = orangers ; B = clémentiniers).....	93
Figure 49 : Relation entre le taux d'azote moyens et les taux de contamination moyens, par poussée de sève (A = orangers, B = clémentiniers).....	93

Figure 50 : Evolution chronologique de l'équilibre C/N (A = orangers ; B = clémentiniers).....	95
Figure 51 : Moyennes de l'équilibre C/N, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-keuls, $P \leq 0.05$).....	96
Figure 52 : Relation entre les équilibres C/N et les taux de contamination, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).....	99
Figure 53 : Relation entre les équilibres moyens C/N et les taux moyens de contamination, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).....	99
Figure 54 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	103
Figure 55 : Evolution chronologique des composés phénoliques totaux (A = orangers ; B = clémentiniers).....	103
Figure 56 : Moyennes des teneurs des composés phénoliques totaux, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-keuls, $P \leq 0.05$).....	103
Figure 57 : Relation entre les teneurs des composés phénoliques totaux et les taux de contamination (A = orangers ; B = clémentiniers).....	106
Figure 58 : Relation entre les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux et les taux moyens de contamination par poussée de sève (A = orangers, B = clémentiniers).....	106
Figure 59 : Spectres UV des composés phénoliques. A : Rutine et B : Quercétine.....	109
Figure 60 : Courbes d'étalonnage des composés phénoliques de référence (standards). A : Rutine, B : Quercétine.....	109
Figure 61 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Citrus sinensis</i> (orangers), prélevées pendant la première poussée de sève (11 avril 2008).....	110
Figure 62 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Citrus clementina</i> (clémentiniers), prélevées pendant la première poussée de sève (11 avril 2008).....	111
Figure 63 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Citrus sinensis</i> (orangers), prélevées pendant la deuxième poussée de sève (18 septembre 2008).....	112
Figure 64 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Citrus clementina</i> (clémentiniers), prélevées pendant la deuxième poussée de sève (18 septembre 2008).....	113

Figure 65: Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus sinensis* (orangers), prélevées pendant la troisième poussée de sève (13 novembre 2008).....**114**

Figure 66 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus clementina* (clémentiniers), prélevées pendant la troisième poussée de sève (13 novembre 2008).....**115**

Figure 67 : Relation entre les teneurs des composés phénoliques totaux et les équilibres C/N (A = orangers ; B = clémentiniers).....**118**

Figure 68 : Relation entre les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux et les équilibres moyens C/N par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).....**118**

----Liste des tableaux----

Tableau 1 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).....	19
Tableau 2 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).....	19
Tableau 3 : Composition chimique du milieu de Murashigue et Skoog (1962), macro-éléments.....	33
Tableau 4 : Evolution biologique des larves de <i>P. citrella</i> après application de la solution phénolique (orangers).....	62
Tableau 5 : Evolution biologique des larves de <i>P. citrella</i> après application de la solution phénolique (clémentiniers).....	62
Tableau 6 : Comparaison de la teneur en carbone entre les poussées de sève (orangers).....	83
Tableau 7 : Comparaison de la teneur en carbone entre les poussées de sève.(clémentiniers).....	83
Tableau 8 : Teneurs moyennes en carbone et taux de contaminations moyens annuels par espèce végétale hôte.....	86
Tableau 9 : Comparaison de la teneur de l'azote total entre poussées de sève (orangers).....	90
Tableau 10 : Comparaison de la teneur de l'azote total entre poussées de sève (clémentiniers).....	90
Tableau 11 : Teneurs moyennes d'azote et taux de contaminations moyens annuels par espèce végétale.....	92
Tableau 12 : Equilibres moyens C/N et taux de contaminations moyens annuels par espèce végétale.....	98
Tableau 13 : Temps de rétention, airs et concentrations de la rutine, identifiés sur les poussées de sève des orangers.....	108
Tableau 14 : Temps de rétention, airs et concentrations de la quercétine, identifiés sur les poussées de sève des clémentiniers.....	108

----Liste des planches----

Planche 1 : Les différents stades biologiques de *Phyllocnistis citrella*. A = oeuf, B = Stade L₁, C = Stade L₂, D = Stade L₃, E = Stade L₄ (prénympe) , F = Nympe et G = Adulte (Photos de F. Leblanc, Cirad).....**15**

Résumé

L'absence des contaminations de *Phyllocnistis citrella* sur les pousses de printemps semble être liée à la composition chimique du feuillage de *Citrus*. Un échantillonnage hebdomadaire a été réalisé durant le cycle phénologique de deux espèces citricoles: *Citrus sinensis* et *C. clementina*. Ce travail a consisté, dans un premier temps, à évaluer l'impact de l'extrait phénolique brut de la première poussée de sève sur l'éthologie des larves de *P. citrella* (L₁ – L₂ – L₃). Les résultats montrent que les traitements effectués ont engendré une mortalité importante surtout après application de la méthode d'irrigation dont l'action a été rapide. De même, une cessation de la prise alimentaire a été notée pendant les premières heures (6h) de contact par irrigation. Les stades larvaires les plus jeunes (L₁ et L₂) semblent être les plus sensibles.

Dans un deuxième temps, la composition chimique (carbone, azote et composés phénoliques) de leurs sites d'oviposition a été étudiée pour déterminer sa qualité alimentaire. Les résultats indiquent que même en présence d'une teneur élevée de composés phénoliques (orangers = 18,78; clémentiniers = 35,99mg/g MS), l'augmentation du niveau nutritionnel C/N (orangers = 9,89 ; clémentiniers = 11,7) et le carbone (orangers = 6,67; clémentiniers = 7,22% MF), en été, influencent positivement l'activité de *P. citrella* (orangers = 95,89 ; clémentiniers = 94%). Les feuilles d'agrumes, comme source de nourriture, jouent un rôle déterminant dans la dynamique des populations de *P. citrella*.

Mots clés : *Phyllocnistis citrella* - *Citrus* – Mortalité - comportement larvaire - Composés phénoliques - Taux de contamination - qualité nutritionnelle.

Abstract

The absence of *Phyllocnistis citrella* infestations on the spring shoots seems to be linked to the chemical composition of *Citrus* foliage. A weekly sampling was conducted during the phenological cycle of two *Citrus* species: *Citrus sinensis* and *C. clementina*. This work was, in a first time, to assess the impact of the crude phenolic extract of spring flushes on the ethology of *P. citrella* larvae (L₁ – L₂ – L₃). The results indicate that the treatments have resulted in a significant mortality especially after application of irrigation method whose action has been rapid. Similarly, a cessation of the food intake was recorded during the first few hours (6h) of contact by irrigation. The youngest larval stages (L₁ and L₂) appear to be the most sensitive.

In a second time, the chemical composition (carbon, nitrogen, and phenolic compounds) of their oviposition sites has been studied to determine its food quality. The results indicate that even in the presence of a high content of phenolic compounds (*C. sinensis* = 18.78 ; *C. clementina* = 35.99 mg/g MS), the increase in the nutritional level C/N (*C. sinensis* = 9.89 ; *C. clementina* = 11.7), and carbon (*C. sinensis* = 6.67 ; *C. clementina* = 7.22 % MF), in summer, influence positively the *P. citrella* activity (*C. sinensis* = 95.89 , *C. clementina* = 94 %). *Citrus* leaves, as a source of nutrients, play a decisive role in *P. citrella* population dynamics.

Key words: *Phyllocnistis citrella* – *Citrus* – Mortality – Larval behaviour – Total phenolic compounds, infestations, nutritional quality.

Introduction générale

Introduction générale

Les agrumes, encore appelés Hespérides dans la mythologie grecque (Bailey et al., 2006), sont originaires du sud-est asiatique, dans les régions allant du nord-est de l'Inde au nord de la Birmanie et celle du sud de l'île de Hainan (Ollitrault et Luro, 1997). Ce sont des arbres de la famille des Rutacées composée de 156 (Tanaka, 1961) ou de 16 espèces (Swingle et Reece, 1967), connus par leur richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes lesquels sont contenus dans leurs fruits et leurs feuilles (Horowitz et Gentili, 1977 ; Kawaii et al., 1999 ; Manthey, 2002). Ils regroupent le genre *Citrus*, *Poncirus* et *Fortunella*. Le genre *Citrus* est le plus important puisqu'il est représenté par l'oranger, le citronnier, le mandarinier, le pomelo, le bigaradier et le cédratier.

En se référant aux travaux de Barkley et al. (2006), portant sur la diversité et la structure génétique des populations d'agrumes, les nombreuses espèces de nos jours sont des hybrides obtenus par croisements des trois espèces ancestrales : bigaradier (*C. medica*), du pamplemoussier (*C. maxima*) et du mandarinier (*C. reticulata*). Cependant, l'amélioration génétique rencontre des problèmes liés à leur nature biologique, notamment par la présence de la polyembryonie qui fixe les hybrides.

Physiologiquement, le plus souvent, les agrumes durant leur cycle passent par trois poussées correspondant à trois montées de sève différentes (Sauer, 1951). La première a lieu durant le printemps, végétativement la plus importante (Praloran, 1971), elle compte en moyenne 80% de la biomasse foliaire annuelle (Garcia-Mari et al., 2002) ; suivie d'une deuxième pousse au début de l'été qui est complémentaire de la première et enfin, une troisième qui correspond à une montée de sève au début de l'automne. Parfois, l'arbre d'agrumes connaît une quatrième pousse végétative, s'il a reçu une nutrition azotée suffisante pendant l'été et qu'il se trouve dans des conditions climatiques favorables à sa croissance (Anonyme, 1968).

L'agrumiculture constitue l'un des principaux secteurs de l'économie et du développement social des pays producteurs. Comme ils peuvent être source d'emploi, les agrumes constituent donc les produits d'exportation et de transformation en divers dérivés tels que les jus, confitures et les essences (Loussert, 1989). Actuellement, les agrumes sont les fruits les plus produits dans le monde (Loussert, 1989), la production mondiale s'est multipliée par deux, passant de 57,77 millions de tonnes en 1981 à 115,52 millions de tonnes en 2011 (FAO, 2012).

Malgré les conditions climatiques et édaphiques favorables, dans leur air de développement, les agrumes ont été soumis à de nombreuses pressions parasitaires telles les maladies et les insectes

ravageurs qui causent des dégâts importants et influent énormément sur le rendement. Ces derniers se nourrissent aux dépens de la plante, dont certains d'entre eux peuvent également constituer des vecteurs de maladies bactériennes, virales ou fongiques. Les principaux insectes ravageurs des agrumes sont les cochenilles (*Lepidosaphes beckii*, *Lepidosaphes glowerii*, *Parlatoria pergandei*), les pucerons (*Aphis spiraecola*, *Toxoptera aurantii*) (Aubert, 1992 ; Mariau, 1999 ; Tamesse et al., 2002), les aleurodes (*Aleurothrixus floccosus*) (Giliomee et Millar, 2009), la mouche méditerranéenne des fruits (Lo Verde et al., 2011) et la mineuse des agrumes (*Phyllocnistis citrella*) (Berkani, 2003).

Parmi tous ceux recensés, la mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella* est considérée comme l'une des plus redoutables. La mineuse s'attaque exclusivement aux jeunes pousses, parfois les tiges et les fruits, elle les détruit partiellement ou en totalité. Son impact sur les plants en pépinière et les jeunes plantations est spectaculaire, leur croissance est quasiment compromise. Les dégâts entraînent fréquemment une chute partielle prématurée des feuilles, accompagnée ou non de nécroses secondaires. La conséquence de l'activité alimentaire des larves au cours de leur développement se caractérise par une destruction importante de la matière végétale en raison de la grande étendue de la mine. En cas de fortes attaques, un fort ralentissement de croissance est noté sur les jeunes arbres et une baisse de la productivité sur les arbres plus âgés. A ces contraintes biotiques s'ajoutent également, dans certains pays producteurs d'agrumes (Algérie par exemple), le problème clé des vergers agrumicoles qui est le vieillissement ; ils sont caractérisés par un faible taux de renouvellement des plantations.

Dans l'interaction plantes insectes trois catégories de résistance ont été définies par Painter (1951). L'antixénose (= non-préférence) est le type de résistance dû à la présence de caractères morphologiques ou chimiques repoussant l'insecte (absence de composés stimulant l'alimentation ou l'oviposition). Alors que l'antibiose se justifie par l'effet des propriétés physiques et chimiques de la plante sur la physiologie de l'insecte, induisant une inhibition de la croissance, une fécondité faible et peut être la mort de l'insecte. Enfin, la tolérance est la capacité d'une plante à supporter ou se rétablir des dégâts provoqués par le ravageur.

Tous les travaux effectués sur *P. citrella*, dans notre laboratoire de recherche, ont suscité une interrogation essentielle visant son inactivité durant la première poussée de sève, malgré sa présence certaine et les conditions printanières favorables à son développement et sa reproduction. Afin de répondre à un tel questionnement, une nouvelle vision reposant sur l'étude de la plante hôte est envisagée.

Ce travail de thèse a principalement concerné l'étude et la caractérisation des effets des composés phénoliques des *Citrus* sur les larves de la mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella*, ainsi que leur distribution le long du cycle de développement de la plante.

Dans la première partie de cette thèse, le contexte bibliographique de ce travail de recherche a été présenté, en exposant successivement les données générales de la plante hôte, des informations bibliographiques sur le ravageur par l'étude de sa bio-écologie, le degré des infestations et les dégâts qu'il cause. Enfin, les caractéristiques, classification et les voies de biosynthèse des composés phénoliques rencontrés chez les végétaux et les *Citrus* en particulier.

La deuxième partie, correspondant aux travaux de recherche, a été organisée en deux grandes parties terminées chacune par une discussion des résultats. Le premier chapitre a été consacré à l'étude des effets de l'extrait phénolique brut, préparé à partir des feuilles de la première poussée de sève, sur la physiologie et le comportement des larves actives de la mineuse. Alors que le deuxième s'intéresse à la connaissance de la qualité chimique des feuilles des agrumes. Cette étude porte sur l'évolution des paramètres nutritionnels et antinutritionnels pouvant affecter la propagation du ravageur, accompagnée d'une corrélation entre les résultats obtenus et la caractérisation des composés phénoliques produits sous l'effet de la saison. Ce document s'achève par une conclusion et les perspectives envisagées.

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Citrus

I- Historique et origine

Le mot agrume vient du latin "*agrimen*", qui signifie aigre. Le nom de l'orange vient du français et de l'arabe narandj. En néerlandais sinaasappel ou pomme de Chine, rappelle l'origine même du fruit.

Différentes hypothèses ont été formulées sur l'origine des agrumes. En général, ils semblent provenir des régions tropicales et sub-tropicales (Nicolosi et al., 2000). Lesne et Pavageau (1999) rapportent que les agrumes sont presque tous originaires de Chine et de l'Inde où ils étaient connus il y'a 4200 ans et cultivés depuis 3000 ans.

Le principal centre d'origine se situerait sous une ligne allant du nord-est de l'Inde au nord de la Birmanie et au sud de l'île de Hainan. A partir de cette zone, la dispersion se serait effectuée vers l'est de l'Inde, l'archipel Malais et la Chine du sud.

La diffusion des agrumes à travers le monde s'est faite très lentement. Le bigaradier, le citronnier et l'oranger n'ont été introduits dans le bassin Méditerranéen que vers la moitié du XII siècle, et le mandarinier au XIX siècle (Rocca Serra et Ollitrault, 1992).

II- Diffusion des agrumes

II-1- Dans le monde

C'est dans la zone subtropicale que les vergers d'agrumes rencontrent les meilleures conditions de croissance et les fruits un environnement idéal pour mûrir (Basler, 2000).

La croissance de la production mondiale des agrumes a été relativement linéaire au cours des dernières décennies. La production annuelle totale d'agrumes s'est élevée à plus de 115 millions de tonnes en 2012 (Fig. 1). Les oranges constituent la majeure partie de la production agrumicole avec plus de la moitié (> 60%) pendant l'année 2011. L'amélioration de la production est principalement due à la croissance des terres cultivées consacrées aux agrumes. La figure 2 représente l'évolution de la production par espèces citricoles.

Selon les données statistiques de la F.A.O. (2012), plus de 140 pays produisaient des agrumes. Cependant, la majeure partie de la production mondiale se concentre dans certaines zones géographiques. L'essentiel est situé dans l'Hémisphère nord, avec environ 73,30% de la production totale. Les principaux pays producteurs d'agrumes sont le Brésil, les pays du bassin méditerranéen, la Chine et les états unis avec 22704,5 – 22441,2 – 22940 – 10445,2 millions de tonnes, respectivement.

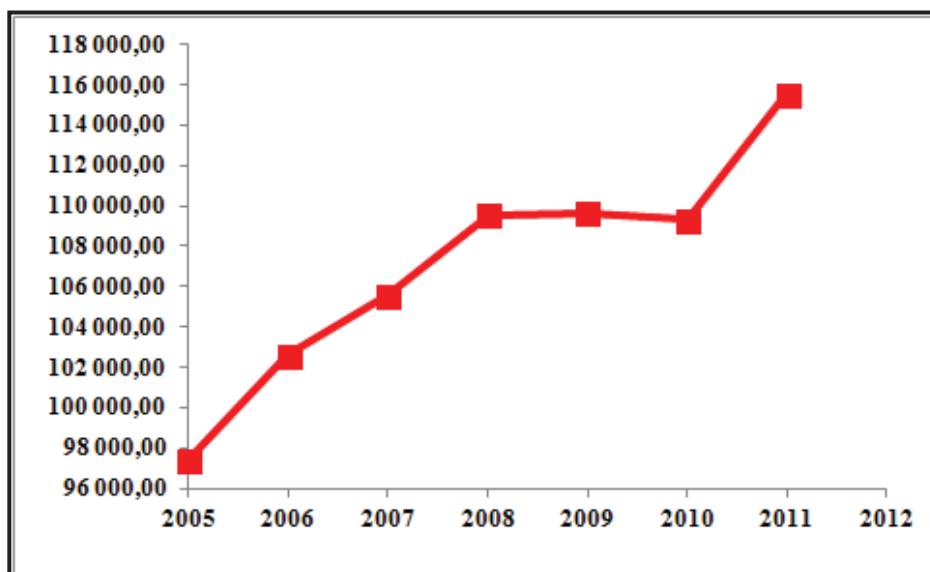


Figure 1 : Production totale d'agrumes dans le monde de 2005 à 2011, en millions de tonnes (F.A.O., 2012).

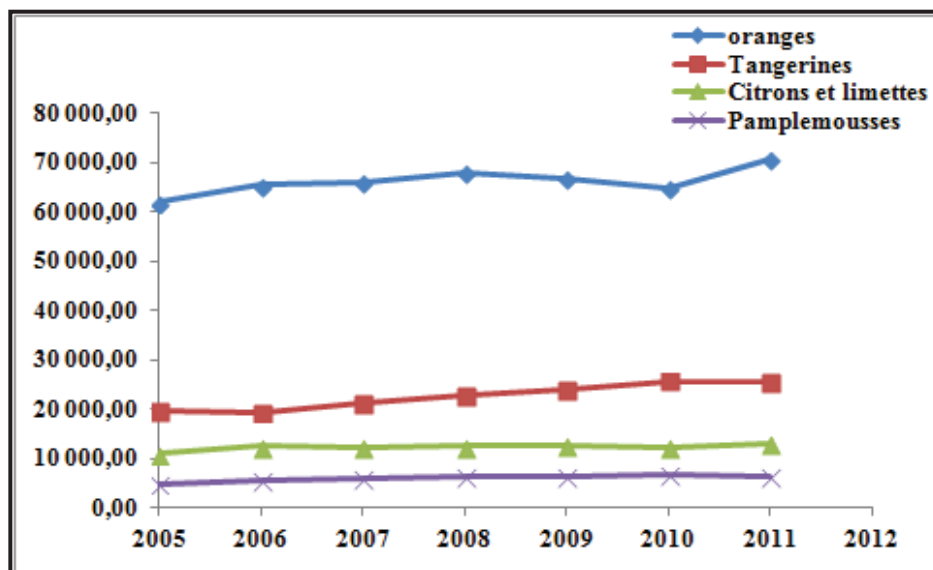


Figure 2 : Evolution de la production mondiale d'agrumes par espèces citricoles de 2005 à 2011, en millions de tonnes (F.A.O., 2012).

II-2- En Algérie

Le secteur de l'arboriculture constitue l'un des piliers de l'agriculture algérienne. Durant l'année 2006/2007, la surface des cultures pérennes présente était de 920.670 ha, les agrumes couvraient une superficie de 63.296 ha, soit environ 6,8% de la superficie totale occupée par l'arboriculture fruitière. Les orangers seuls occupent 46.310 ha dont 19.300 ha de Thomson Navel soit 33% et 11.700 ha de Washington Navel soit 20%, 12.300 ha pour la double fine soit 23%, une superficie de 6.440 ha pour la Valencia late soit 11%, et enfin 8.780 ha soit 15% pour les autres variétés (F. A. O., 2012).

La production totale en agrumes pour l'année 2001 a atteint 571.000 millions de tonnes dont 415.000 tonnes d'oranges, 111.000 tonnes en tangerines et 44.000 tonnes pour les citrons et les limettes (F.A.O., 2012).

Les grandes zones de production par ordre d'importance sont la plaine de la Mitidja 44%, Habra Mascara 25%, le périmètre Bounamoussa et la plaine de Saf Saf Skikda 16% et le périmètre de la Mina et bas Chéelif 14%. Le Centre du pays occupe une surface de 39.305 ha d'agrumes soit 62%, l'Ouest représente 26% soit 16.453 ha, l'Est 9,7% représenté par 6.134 ha et 1.404 ha pour le sud soit 2,2%.

III- Description et classification des agrumes

III-1- Description

Les agrumes sont généralement classés parmi les espèces végétales pérennes moyennement sensibles au froid (El-Otmani, 2005), ce sont de petits arbres ou arbustes plus ou moins épineux de 5 à 10 mètres de haut et caractérisés par un feuillage persistant ordinairement de couleur vert foncé brillant. Les fleurs relativement petites et blanches, d'odeur suave, sont produites en grande abondance. Les fruits sont caractérisés par des quartiers remplis de petites vésicules juteuses, ils sont présents de novembre à mars selon les espèces, avec de grandes variations de couleur, de forme et de taille. Les pépins sont plus ou moins abondants, la sélection tend à les faire disparaître (Berger, 2004 ; Anonyme, 1993).

III-2- Classification

Le terme "agrumes" correspond à trois genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*. Ceux-ci appartiennent, avec huit autres genres dont *Eremocitrus*, *Microcitrus*, *Clymenta*, *Citropsis* et *Severinia*, à la sous tribu des *citrinae*, tribu des *citrea*, sous familles des *Aurantioideae* dans la famille des *rutaceae* (Pottier-Alapetite ; Praloran, 1971).

Le genre *Citrus* comprend la plupart des agrumes cultivés pour leurs fruits et leurs huiles essentielles. En référence à la classification de Swingle et Reece (1967), les huit espèces cultivées sont : *C. sinensis* (L.) Osb. (Oranger), *C. aurantium* L. (Bigaradier), *C. reticulata* Blanco (Mandarinier), *C. paradisi* Macf (Pumelo), *C. grandis* (L.) Osb. (Pamplemoussier), *C. limon* (L.) Burn. F. (Citronnier), *C. aurantifolia* (Christm.) Swing. (Limettier) et *C. medica* L. (Cedratier) (Prolaran, 1971).

III-2-1- Les orangers doux (*Citrus sinensis*)

L'oranger est l'espèce type du genre, il est certainement l'agrume le plus cultivé et le plus connu au monde (Rebour, 1966). Les plus nombreuses variétés se regroupent en Navel pour la table, Blondes et Sanguines pour les jus.

Il résiste à -7/8 °C et apprécie les climats peu contrastés, ni trop chauds, ni trop froids (Berger, 2003).

L'oranger peut atteindre 7 à 8 mètres de hauteur, à croissance rapide (Berger, 2003). Les feuilles sont lancéolées à pétiole étroitement ailé. Le fruit est sub-globuleux à épiderme orange ou rougeâtre dont la pulpe juteuse est sucrée. Les cotylédons et les embryons sont de couleur blanche (Anonyme, 1993).

III-2-2- Les clémentiniers (*C. clementina*)

Le clémentinier est le résultat d'hybridation réalisée par le père Clément en Algérie (1902) entre le mandarinier et le bigaradier. Il se distingue du reste des agrumes par l'absence de pépins (il peut y avoir parfois) (Jean-françois, 2004).

L'arbre est vigoureux à port érigé et compact, d'environ 3 mètres de hauteur, il résiste comme l'oranger à -7/8 °C. Les feuilles sont allongées et étroites, les fleurs sont petites et blanches (Berger, 2002a), les fruits mesurant 7 à 10cm de diamètre, la peau est fine et brillante, de couleur foncée dont la chair est juteuse et très parfumée (Jean-François, 2004).

III-2-3- Les bigaradiers (*C. aurantium*)

Le bigaradier peut atteindre jusqu'à 7 mètres de hauteur et résiste à -9 °C, il se distingue de l'oranger par ses feuilles plus étroitement lancéolées et pointues à pétiole nettement ailé, riches en huiles essentielles à odeur de bergamote. La floraison est abondante à fleurs blanches très parfumées. Ses fruits sont à peau rugueuse et à pulpe acide et amère (Berger, 2002b).

IV- Cycle végétatif des agrumes

Le cycle végétatif des agrumes est de type annuel, caractérisé habituellement par l'apparition de trois ramifications bien distinctes appelées communément poussées de sève au cours trois périodes durant l'année.

Au printemps et après une vie ralentie, la croissance se manifeste à partir de fin février. Pendant un peu plus de 2 mois, de jeunes ramifications de feuilles se développent, certaines de ces nouvelles pousses sont fructifères ; les boutons floraux puis les fleurs apparaissent de la fin mars au début mai (Anonyme, 1987 ; Loussert, 1989). Cette première poussée de sève est la plus importante du point de vue masse végétative (Loussert, 1989).

En été, l'activité végétative est moins riche en événements. Une seconde poussée de sève plus faible que la précédente a lieu en juillet – août selon la vigueur, les températures et les conditions d'alimentation plus particulièrement en eau (Anonyme, 1987), assurant le renouvellement du feuillage (Loussert, 1989). Tandis qu'en automne, de mi-septembre à la fin octobre, la croissance apparaît plus nettement que la précédente mais c'est surtout l'évolution du fruit qui retient l'attention (Anonyme, 1987).

Chapitre II

Phyllocnistis citrella

I- Introduction

La mineuse des feuilles d'agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton, appartient à la famille des *Gracillariidae*. Ce microlépidoptère originaire du sud-est asiatique (Urbaneja et al., 2000) est connu depuis longtemps comme le principal ravageur des *Citrus* en Asie (Garcia-Mari et al., 2002). Il a été décrit pour la première fois à Calcutta en Inde (1856) par H. T. Stainton qui fût à l'origine de sa nomination "Mineuse des feuilles d'agrumes" (Mansanët, 1999), puis s'est dispersé lentement vers la Corée et les Philippines (1915), l'Australie (1918), le Japon (1927), l'Afrique de l'est (1967) et l'Afrique de l'ouest (1970) (Anonyme, 1998).

Après avoir été signalé en 1993 en Floride, *P. citrella* s'est disséminé très rapidement. Aujourd'hui, il est trouvé dans presque toutes les zones citricoles du globe (Bermúdez et al., 2004 ; Vercher et al., 2008) ; il a envahi simultanément la côte Méditerranéenne de l'Europe, le Moyen-Orient et l'Afrique du nord de 1993 à 1995 (Mafi et Ohbayashi, 2004).

Dans le bassin méditerranéen, il a été observé en 1993 en Espagne, en 1994 en Algérie, puis en Turquie, Israël, Maroc, Tunisie, Syrie, Italie et Malte (Berkani et al., 1996).

En Algérie, il a été signalé pour la première fois dans les régions côtières des villes de Mostaganem et d'Oran (Berkani, 1995). Depuis, ce ravageur des *Citrus* a envahi toutes les zones agrumicoles du pays, tels que Tipaza, Boufarik, Alger, Boumerdes, Bejaia, Jijel, Skikda et Annaba, puis il s'est étendu vers les zones intérieures du pays, telles que Blida, Chlef, Ain Defla, Médéa, Tizi-Ouzou, Bouira, Tlemcen, Relizane, Guelma et El Taref (Dridi et Berkani, 1996). Il constitue aujourd'hui le principal ravageur des agrumes en Algérie (Berkani et Mouatz, 1998).

II- Description morphologique

II-1- Œuf

Les œufs de la mineuse des feuilles des agrumes sont de formes ovales, légèrement convexes (Jacas et al., 1997), ressemblant à des gouttelettes minuscules d'eau (Legaspi et French, 1996). Ils mesurent seulement $0,31 \pm 0,02$ mm de long et $0,22 \pm 0,02$ mm de large. Leur surface est lisse translucide quand ils sont récemment pondus, mais deviennent jaunes pâles et opaques à deux jours ou près de l'éclosion (Planche 1A) (Jacas et al., 1997 ; Legaspi et french, 1996). Ils sont d'un aspect mou et argenté. La période de leur incubation varie de 2 à 6 jours environ (période d'hiver) (Ba-angood, 1977).

La mineuse pond ses œufs préférentiellement sur les jeunes feuilles localisées de 4,5 à 5 centimètres de l'extrémité des nouvelles pousses (Garrido et Gascón, 1995 ; Urbaneja et al., 2001), ils sont déposés séparément, avec une préférence d'oviposition sur les feuilles de longueur

inférieure à 10mm. L'insecte pond ses œufs près de la nervure principale des jeunes feuilles. D'une manière générale, un œuf par feuille, au maximum deux. La face postérieure de la feuille est la plus accessible à *P. citrella* (Sanchez et al., 2002).

II-2- Larves

L'éclosion des œufs se produit dans les 2 à 10 jours, les larves pénètrent immédiatement sous la cuticule et se nourrissent à partir des cellules qu'elles perforent grâce à leurs crochets mandibulaires (Heppner, 1993).

Durant son cycle de développement, *Phyllocnistis citrella* passe par quatre stades larvaires (Al-Khateeb, 1999). Le corps des larves est allongé, avec une tête prognathe robuste et triangulaire, le thorax élargi avec des segments bien délimités dont les trois derniers sont étroitement cylindriques et caudiformes, les pattes thoraciques et abdominales sont absents (Berkani, 1995).

Les trois premiers stades larvaires ne diffèrent entre eux que par la taille, les segments thoraciques et l'abdomen (Barouga, 1968). Les larves de premier stade mesurent $0,61 \pm 0,17$ mm de long et sont planes, avec une tête notablement plus large que le reste du corps. Celles du second et troisième stade présentent un thorax plus large que la tête et du reste du corps. Toutes les larves de *P. citrella* sont translucides. Alors que celles nouvellement émergées sont totalement transparentes et prennent la couleur jaune vert au deuxième stade et jaune obscure au troisième (Sanchez et al., 2002) (Planche 1B – 1C – 1D).

Le quatrième stade larvaire ou pré-nymphé (Planche 1E) se distingue essentiellement par un appareil buccal atrophié, car pendant cette phase l'insecte cesse de se nourrir (Barouga, 1968). Le corps est plus ou moins cylindrique de couleur jaune pâle, avec des segments thoraciques plus volumineux que ceux du reste du corps, sa longueur moyenne est de $3,40 \pm 0,18$ mm (Sanchez et al., 2002). A ce stade, la pré-nymphé construit la chambre nymphale en couvrant les murs internes de la mine avec de la soie. La contraction de ce tissu sous effet de dessèchement provoque le repliement du bord de la feuille, constituant ainsi une légère boucle. La coque nymphale, initialement de couleur blanchâtre devient marron-orangée après plusieurs jours (Sanchez et al., 2002). La nymphose commence lorsque la pré-nymphé aura formé le cocon nymphal (Knapp et al., 1995).

II-3- Chrysalide

La nymphe se trouve généralement dans une loge nymphale à l'extrémité de la feuille (Heppner, 1993). Elle est de couleur brun-jaunâtre et devient plus foncée avec l'âge (Legaspi et French, 1996). Sa longueur varie entre 2 et 2,5 mm (Ba-angood, 1977). Selon Badawy (1969), elle est en forme de fuseau présentant une longue antenne qui s'étend le long du corps avec deux yeux composés apparaissant comme des points noirs sur chaque côté de la tête (Planche 1F). On observe

la présence des papilles labiales et des ailes antérieures présentant chacune une tâche oculaire noire à l'extrémité distale, alors que le dernier segment abdominal se termine par une courte paire de processus caudaux similaires à celle de la pré-nympe.

Les chrysalides mâles et femelles peuvent être facilement différenciées en se basant sur la morphologie du dernier segment abdominal (pygidium). Néanmoins, contrairement aux figures prises par Clausen (1931), ce sont les chrysalides femelles qui montrent un dernier segment plus long (probablement une fusion des segments IX et X) soutenant deux longues franges (Fig. 3A), tandis que les mâles montrent un pygidium plus court sans franges (Jacas et Garrido, 1996) (Fig. 3B).

Juste avant l'apparition de l'adulte, la chrysalide emploie une épine frontale, se trouvant sur sa tête, pour perforer le cocon et forcer son corps à travers (Legaspi et French, 1996).

II-4- Adulte

L'adulte est un petit papillon, d'environ 2 à 2,5mm de long et de 4 à 5mm d'envergure (Sanchez et al., 2002), de couleur blanc argentée (Brun et Borelli, 1995), dont les ailes antérieures portent 4 bandes ou stries colorées de marron à noire avec une tâche noire sombre à l'extrémité et les ailes postérieures sont très minces de couleur blanchâtre (Planche 1G). Ces deux paires d'ailes sont fringuées de petits poils minuscules (Ba-angood, 1977).

Le corps de couleur blanche est couvert en totalité par les deux paires d'ailes quand il est en position de repos. Il possède des antennes longues et filiformes (Sanchez et al., 2002) de couleur brune (Al-Khateeb, 1999). Il présente trois paires de pattes, les pattes antérieures sont plus courtes que celles du centre, alors que les postérieures sont plus développées et sont munies de deux paires d'éperons, s'élevant des extrémités du Tibia avec cinq articles ; l'article basale étant le plus long (Guerrou, 1974). La tête est caractérisée par la présence d'écailles sinueuses blanches (Heppner, 1993). Selon Badawy (1969), la capsule céphalique est ronde avec la fusion du front et du clypeus formant ainsi la région fronto-clypéal. Elle présente deux yeux composés sans ocelles. L'appareil buccal est de type suceur, représenté par deux Galéas formant le proboxis ; tube aspirateur formé par l'assemblage des deux maxilles et la palpe labiale qui est composée de trois segments (Badawy, 1969).

D'après Balachowsky (1966), la taille de l'insecte, sa couleur et sa forme ovulaire au repos, rend difficile à le percevoir dans les plantations.

III- Systématique

Nom commun : Mineuse des feuilles des agrumes

Synonymie	: <i>Lithocollentis citricola</i> Swinh (Balachowsky, 1966)
Embranchement	: Arthropodes
Classe	: Insectes
Ordre	: Lépidoptères
Super-famille	: <i>Tineoidea</i>
Famille	: <i>Gracillariidae</i>
Sous-famille	: <i>Phyllocnistinae</i>
Genre	: <i>Phyllocnistis</i>
Espèce	: <i>P. citrella</i> Staint.

IV- Plantes hôtes

Phyllocnistis citrella est le ravageur affectant généralement les plantes appartenant à la famille des *Rutaceae* (Bermudez et al., 2004 ; Nagamine et Heu, 2002), il peut être trouvé également sur d'autres plantes ornementales (Heppner, 1993) où il ne peut pas accomplir son cycle biologique (Godfrey et Grafton-Cardwell, 2002).

Le ravageur est principalement attiré par le genre *Citrus* ; toutes les espèces en développement sont attaquées. Il semble exister une différence dans la susceptibilité entre les cultivars ; les pamplemoussiers et les mandariniers sont les plus sensibles (Argove et Rossler, 1996). Cependant, Garcia-Mari et al. (2002) relie cette susceptibilité aux nombres annuels des bourgeons ouverts, par contre Ba-angood (1978) et Wilson (1991) considèrent que la sensibilité de la plante hôte est en relation étroite avec la taille des feuilles et le nombre des stomates.

V- Bio-écologie

Phyllocnistis citrella est un ravageur sténophage n'évoluant que sur jeunes pousses et lorsque les conditions thermiques sont favorables (Boulahia et al., 2002). Ce phytophage assure son hibernation au stade adulte et reprend son activité en printemps (Balachowsky, 1966).

Les adultes ont une activité crépusculaire ou nocturne ; la journée ils se reposent la plupart du temps dans les zones sombres des arbres (Garrido et Gascon, 1995). Alors que sa nourriture est basée sur le nectar (Legaspi et French, 1996).

Selon Ba-angood (1977), les adultes s'accouplent généralement la nuit, 9 à 11 heures après l'émergence. Par contre, Legaspi et French (1996) rapportent que cette période est relativement longue entre 14 et 24 heures.

L'émergence des adultes de leurs chambres nymphales se fait tôt le matin et dure en moyenne 22 minutes. La ponte commence 1 à 8 jours plus tard (Smith et Hoy, 1995). Pendant la soirée, les femelles pondent leurs œufs séparément sur la face inférieure de la feuille, et chaque femelle peut pondre entre 18 – 76 œufs (moyenne de 48 œufs) pendant sa vie (2 – 7 7 jours). Les œufs éclosent entre 2 – 10 jours et les jeunes larves commencent à perforer la surface foliaire. Typiquement, la perforation se produit seulement du côté inférieur de la feuille, mais quand la densité du phytophage augmente, les deux côtés peuvent être infestés (Godfrey et Grafton-Cardwell, 2002).

Les mines causées par les larves du premier stade mesurent de 1 à 1,5cm de long. En principe, elles sont presque imperceptibles. Fréquemment, les L₁ minent parallèlement à la nervure principale de la feuille, avec une direction vers sa base. Même si l'œuf est déposé sur une nervure latérale, la larve mine vers la nervure principale. Les larves grandissent, les mines deviennent longues et très visibles atteignant 3 à 4cm de long, à ce moment on distingue les larves du deuxième stade. Les larves continuent à creuser d'une manière serpentine et empilée l'une sur l'autre. Les larves du troisième stade forment des mines claires, visibles et étendues, arrivant même à occuper la totalité des petites feuilles. A la fin de ce stade, les larves se dirigent vers le bord de la feuille et continuent à s'alimenter, jusqu'au moment de leur évolution en pré-nympe (Sanchez et al., 2002).

Selon Al-Khateeb (1999), le cycle de développement de *P. citrella* de l'œuf à l'adulte varie en fonction des conditions climatiques, notamment la température. Il est approximativement de 13 à 52 jours ; de 2 à 10 jours pour l'éclosion des œufs, de 5 à 20 jours pour le développement larvaire, de 6 à 22 jours pour le développement de la nymphe et l'insecte adulte de 2 à 12 jours. Mais, dans certaines conditions, il peut atteindre les 20 jours. Par contre, Sanchez et al. (2002) ont montré que le cycle peut être complet après $14,25 \pm 1,29$ jours à $27,67$ °C et 61% d'humidité relative ; la durée par stade se résume comme suit : $2,35 \pm 0,32$ jours pour l'éclosion des œufs, $4,25 \pm 0,23$ jours pour les larves ($1,11 \pm 0,15$ pour les L₁, $1,12 \pm 0,10$ pour les L₂ et $2,02 \pm 0,14$ pour les L₃), $1,03 \pm 0,13$ pour les pré-nymphes, $6,58 \pm 0,61$ pour les chrysalides et pour l'imago un minimum de 4 et un maximum de 20 jours.

Le nombre de générations chez *P. citrella* varie selon les zones géographiques. C'est ainsi qu'en Algérie 5 à 6 générations ont été observées (Berkani et al., 1996), en Chine 9 à 15 (Knapp et al., 1994), six au Japon (Clausen, 1931), dix en Inde (Pandey et Pandey, 1964) et 13 générations produites sous les conditions espagnoles (Mansanet et al., 1999).

VI- Dégâts

Toutes les espèces citricoles peuvent être infestées par *P. citrella*, à n'importe quel âge (Mansanët et al., 1999). Les dommages de plus grande importance économique se produisent dans les nouvelles plantations, arbres nouvellement greffés et les pépinières, car ils sont en croissance continue et possèdent une biomasse insuffisante pour compenser les pertes causées par les attaques (Argove et Rösler, 1996). Dans les vergers adultes, les effets sont observés à moyen terme sur l'équilibre annuel des feuilles et le niveau de la production foliaire (Garcia-Mari et al., 2002).

Les chenilles s'attaquent, particulièrement, aux jeunes feuilles nouvellement formées (Godfrey et Grafton-Cardwell, 2002) et sont surtout localisées sur leur face inférieure (Diaz et al., 2006). Ces dégâts sont causés par les divers stades larvaires, qui se nourrissent de la sève de la feuille entre le parenchyme et la cuticule, produisant des mines et des galeries. Les dommages les plus graves sont provoqués par le troisième stade larvaire. C'est ainsi qu'une seule larve peut rapidement détruire 30% de la surface d'une feuille de *Citrus* ayant 8cm de long, et trois larves peuvent détruire jusqu'à 60% (Mansanët et al., 1999); *P. citrella* affecte indirectement l'assimilation chlorophyllienne (Knapp et al., 1994 ; Argov et Rösler, 1996) et par conséquent la vitalité de la plante (Larka et al., 1984).

Les surfaces foliaires attaquées servent de foyer à l'établissement des maladies telles que le chancre des agrumes "*Xanthomonas campestris*" (Liu et al., 1999 ; Lim et Hoy, 2005) et "*Xanthomonas axonopodis*" (Chagas et al., 2001) et augmentent le développement des champignons saprophytiques, telles que "*Alternaria*" et "*Puccilomyces*" (Larka et al., 1984). Les dégâts de la mineuse causent également l'abscission précoce des feuilles adultes endommagées, représentant ainsi une perte additionnelle de la biomasse foliaire (Garcia-Mari et al., 2002).

Gottwald et al. (2001) rapporte que les dégâts causés par *P. citrella* affectent la croissance et le développement, par contre Garcia-Mari et al. (2002), a conclu que les dégâts ont un effet très minime ou sans effets sur la formation des pousses de printemps et le niveau de la floraison, de même pour le rendement en fruits qui est nullement affecté.

La sévérité des dommages de *P. citrella* dépend de la synchronisation de l'infestation de la mineuse par rapport aux poussées de sève saisonnières, qui diffèrent selon les régions, les variétés et l'âge des plantes (Knapp et al., 1995). En Chine et en Australie, il a été montré que *P. citrella* a causé de faibles dégâts sur les pousses de printemps, et les infestations graves se sont rarement produites (Garcia-Mari et al., 2002), alors qu'en conditions Méditerranéennes, *P. citrella* prolifère seulement durant les mois chauds de l'année et les pousses de printemps échappent habituellement à ses dégâts (Argove et al., 1995 ; Berkani et al., 1996 ; Garcia-Mari et al., 2002).



Planche 1 : Les différents stades biologiques de *Phyllocnistis citrella*. A = oeuf, B = Stade L₁, C = Stade L₂, D = Stade L₃, E = Stade L₄ (prénymphe) , F = Nymphe et G = Adulte.

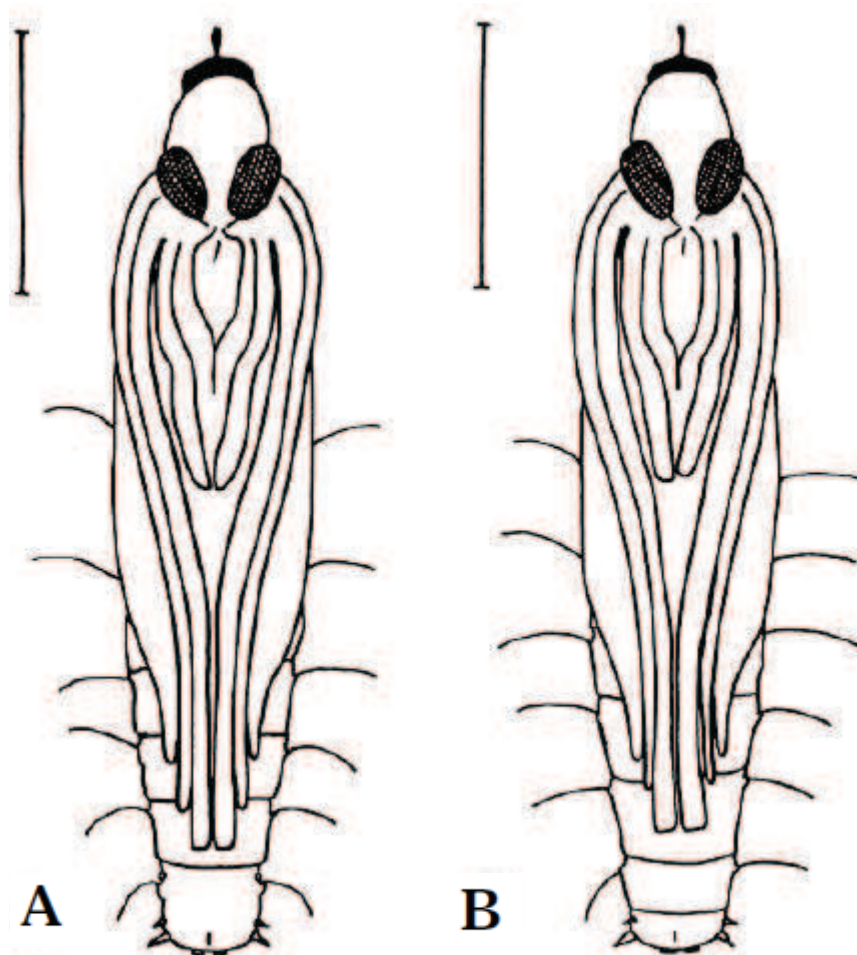


Figure 3 : Nymphes de *Phyllocnistis citrella* : A = femelle, B = mâle (Jacas et Garrido, 1996).

Chapitre III

Composés phénoliques

I- Généralités

Les composés phénoliques appartiennent à la classe des métabolites secondaires végétaux. Ils interviennent dans la défense des plantes contre les agressions environnementales (Gee et Johnson, 2001). En effet, de nombreuses fonctions peuvent être attribuées à ses molécules, ils peuvent résister aux diverses agressions des organismes pathogènes, ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux aux divers stress et jouent le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (Allélopathie) et entre les plantes et les symbioses, (Macheix et al., 2005).

Ils correspondent à une grande variété de substances les plus hétérogènes, les plus nombreuses et les plus distribuées dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Wollgast et Anklam, 2000 ; Bruneton, 2009). Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou engagées dans une fonction ester, éther ou hétéroside (Urquiaga et Leighton, 2000). Ceux présents sous forme de glucosides sont les constituants des végétaux supérieurs les très largement répandus (Tanguy, 1971 ; Brzozowska et al., 1971). La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al., 2005). Le ou les noyaux aromatiques peuvent être produits soit par la voie des shikimates (Kening et al., 1995), la voie de l'acétate (Bruneton, 2009), ou bien de l'association des deux ; la voie des phénylpropanoïdes (Hoffmann et al., 2004); induisant la synthèse de composés mixtes (Bruneton, 1999). Les composés phénoliques regroupent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones (Stalikas, 2007). Dans cette classe de métabolites secondaires, se trouvent de nombreux composés, qui peuvent être classés selon leurs structures :

II- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques constituent les formes les plus simples des composés phénoliques. Ils se divisent en deux classes : celle qui dérive de l'acide benzoïque avec une structure (C6-C3 où C6-C1) et celle qui dérive de l'acide cinnamique (C6-C3) (Hollman, 2001).

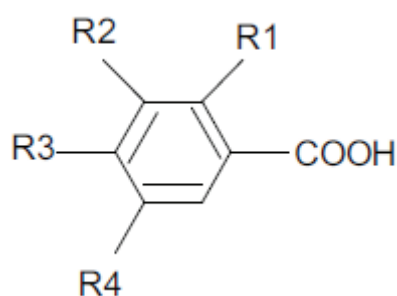
La concentration de l'acide hydroxy-benzoïque (Tab.1) des plantes comestibles est généralement très faible, à l'exception de certains fruits rouges, le radis noir et les oignons, qui peuvent avoir des concentrations de plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de matière fraîche. Le thé est une source importante d'acide gallique, les feuilles peuvent contenir jusqu'à 4,5 gramme par kilogramme de matière fraîche. Cependant, les acides hydroxy-cinnamiques (Tab. 2)

sont plus fréquents. Ces dérivés sont très présents dans l'alimentation humaine (Fleuriet et al., 2005). Ces acides sont rarement trouvés sous formes libres. Les formes liées sont : les dérivés où les esters glycosylés de l'acide quinine, l'acide shikimique et de l'acide tartrique (Manache et al., 2004). Chez les agrumes, 11 acides phénoliques ont été isolés de la peau du fruit et identifiés : acides vanillique, trans-cinnamique, salicylique, 4-hydroxybenzoïque, syringique, m coumarique, férulique, caféique, gallique, protocatéchuïque et l'acide *p*-coumarique (Moon-Young et al., 2011).

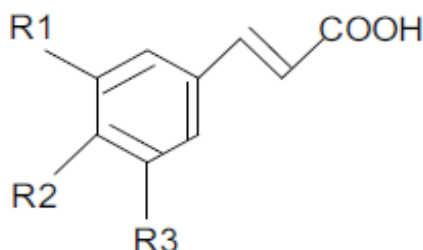
II-1- Biosynthèse

A partir du phosphoénol-pyruvate et l'érythrose 4-phosphate, l'aldocondensation et la déshydratation de ce dernier conduisent au déshydroshikimate, qui est réduit au shikimate à l'aide du NADH₂. L'acide shikimique produit réagit ensuite avec le phosphoénol-pyruvate, qui suite aux réactions de phosphorylation, déshydratation, déshydrogénation, décarboxylation et amination forment la phénylalanine ; précurseur de la synthèse des phénols (Richter, 1993 ; Dewick, 2002).

Dans le genre *Citrus*, les acides phénoliques dérivent essentiellement de l'acide hydrocinnamique (King et Young, 1999). Les concentrations des acides phénoliques (acide férulique, acide sinapique, acide *p* coumarique et acide caféique) sont significativement plus élevées dans la peau des fruits par rapport à la pulpe. L'acide férulique est le composant principal dans la pulpe et la peau suivi l'acide *p* coumarique, sinapique et l'acide caféique qui représente la concentration la plus faible chez les différentes espèces d'agrumes (Gorinstein et al., 2004a ; Gorinstein et al., 2004b ; Gorinstein et al., 2001). Contrairement aux orangers et pamplemoussier, les citronniers accumulent des concentrations plus élevées (Gorinstein et al., 2001). Par ailleurs, les acides phénoliques qui dérivent de l'acide benzoïque sont moins représentés chez les agrumes. Ainsi, Swatsitang et al. (2000) rapporte la présence, chez *Citrus sinensis*, des acides galliques, procatéchuïque, chlorogénique, *p* hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.

Tableau 1 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
H	H	H	H	Acide benzoïque
H	H	OH	H	Acide <i>p</i> hydroxybenzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique

Tableau 2 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

R1	R2	R3	Acides phénoliques
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide <i>p</i> coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

III- Les Flavonoïdes

III-1- Généralités

Le nom flavonoïde provient du terme *flavus* c'est-à-dire jaune (Malešev et Kuntić, 2007). Ils sont largement distribués dans les fruits, les légumes, les jus de fruits, le thé et le vin.

Dans les tissus végétaux, les flavonoïdes ont montré de nombreuses fonctions : la protection contre les radiations UV (Shirley, 1996 ; Rousseaux et al., 1998 ; Gitz et al., 1998), le rôle des phytoalexines, la protection contre les herbivores et les insectes, rôles des composés chimiques

allélopathiques, initiateur de l'interaction symbiotique (Aoki et al., 2000), régulation du transport d'auxine et stimulateurs du pollen (Dixon et Paiva, 1995).

Les flavonoïdes ont été mis à profit dans l'industrie alimentaire, cosmétologique et en dermatopharmacie. En plus de leurs fonctions biochimiques, physiologiques et écologiques, de nombreux flavonoïdes jouent un rôle de protecteur dans la santé humaine (Martens et al., 2003) ; ils sont surtout illustrés en thérapeutiques comme anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, anti-tumoraux et anti-oxydants. Des travaux plus anciens ont montré que les phénols sont associés à des processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la différenciation organogène, la dormance des bourgeons, la floraison et tubérisation (Heimeur et al., 2004).

La plupart des agrumes accumulent des quantités importantes de flavonoïdes durant le développement de leurs organes (Calabró et al., 2004 ; Kawaii et al., 2001), et contiennent un type de flavanone qui fait leur différenciation en jus d'agrumes (Belajová et Suhaj, 2004)

III-2- Distribution

Les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes, puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles des cellules (Piquemal, 2008). Ces substances, présentes dans les différents organes des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (Verhoeven et al., 2002), varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal (Fritch et Griesbach, 1975) ou avec l'interaction de la plante avec son environnement (Boudet, 2000). Ainsi, certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certaines espèces végétales ; les flavanones dans les agrumes, les iso flavones dans le soja, les anthocyanes dans les fruits rouges, les flavonols dans les choux, les brocolis, les oignons et le raisin (Heller et al., 1998).

III-3- Biosynthèse

Deux classes de gènes codent la voie de biosynthèse des flavonoïdes :

- 1- Les gènes de structure codent les enzymes, qui interviennent directement dans la synthèse des flavonoïdes ;
- 2- Les gènes de régulation, qui contrôlent l'expression des gènes de structure (Schijlen et al., 2004).

Les flavonoïdes sont formés dans les plantes et sont synthétisés à partir des acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, avec des unités acétates (Middleton et al., 2000). La phénylalanine-ammonialyase catalyse la transformation de la L-phénylalanine en acide trans-cinnamique par désamination, lequel est l'intermédiaire principal dans la biosynthèse des composés phénoliques (Rivero et al., 2001).

La chalcone synthase (Fig. 4) catalyse la condensation de trois molécules d'acétates activées (malonyl CoA) avec *p*-coumaroyl CoA pour former la 4,2',4',6' tétrachalcone (Schijlen, 2004). Cette chalcone est métabolisée en flavanone (naringénine) sous l'action de la chalcone isomérase. Ces deux formes de naringénine : le chalcone et le flavone sont les précurseurs pour tous les composés phénoliques produits par les plantes.

Le flavone est probablement modifié dans un mode réactionnel en plusieurs dérivés par hydroxylation, méthylation glycosylation et rhamnosylation. Le groupe glycosylique le plus commun, lié aux flavonoïdes des *Citrus* est le diglycoside rhamnose-glucose (Moringuschi et al., 2003).

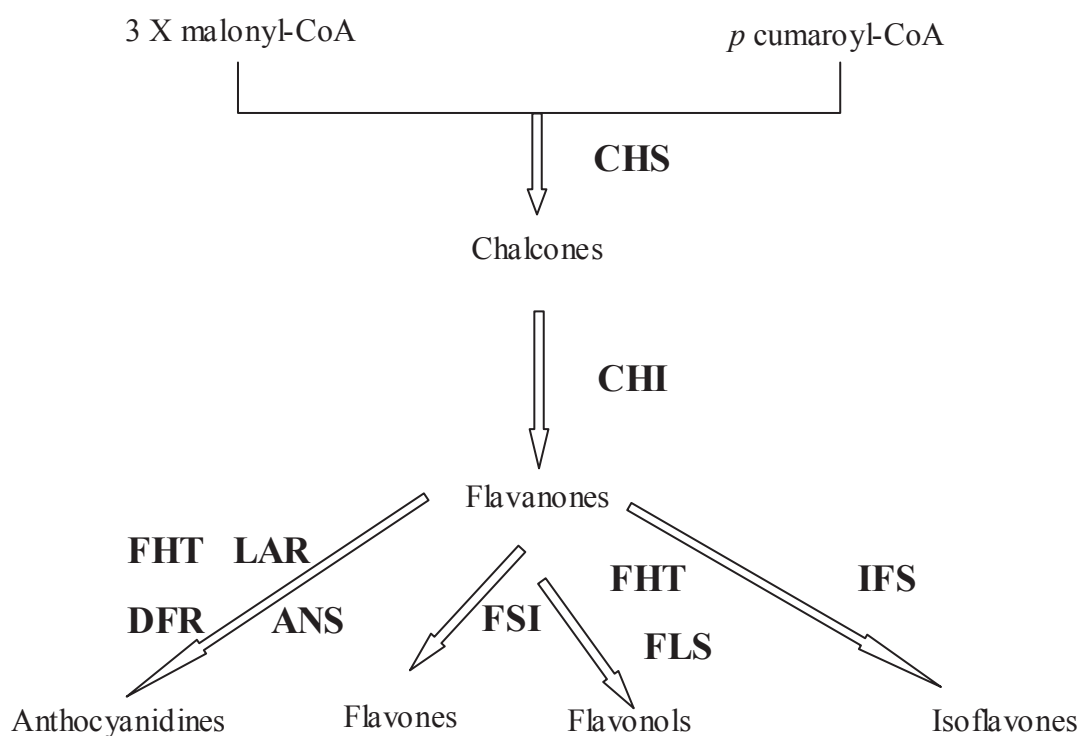


Figure 4 : Biosynthèse des flavonoïdes.

CHS: Chalcone synthase; **CHI**: Chalcone isomérase; **FHT**: Flavanone 3-hydroxylase; **DFR**: Dihydroflavonol 4'-reductase; **LAR**: Leucoanthocyanidine 4-reductase; **ANS**: Anthocyanidine synthase; **FSI**: Flavone synthase; **FLS**: Flavonol synthase; **IFS**: 2-Hydroxyisoflavone synthase.

III-4- Structure

Les flavonoïdes présentent tous la même structure de base (Fig. 5), ils sont constitués de 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), répartis sur deux unités aromatiques en C6 (A) et (B) et reliés par une chaîne à 3 carbones formant ainsi l'hétérocycle (C) (Cook et Samman, 1996 ; Fawe, 1997 ; W-Erdman et al., 2007).

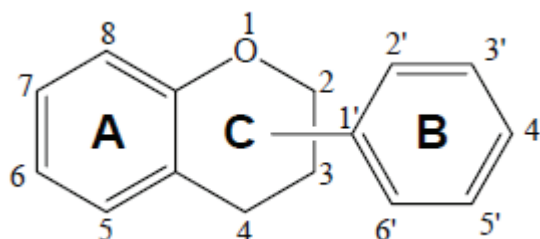


Figure 5 : squelette de base des flavonoïdes.

III-5- Classification

Dans le genre *Citrus*, on distingue trois classes de flavonoïdes : flavanones, flavones et flavonols (Pellati et al., 2004), et une prédominance des flavanones et des flavones (Peterson et al., 1998), avec plus de 60 molécules déjà identifiées (Calabró et al., 2004). Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les 2 cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 (Marfak, 2003).

III-5-1- Flavanones

Les agrumes sont parmi les rares espèces qui contiennent les flavanones (Peterson et al., 1998), ils accumulent de grandes quantités de flavanones glycosylés, ayant une saveur variable. Les néohespéridoses flavanones trouvés chez le pamplemoussier, sont habituellement amères et les rutinosides flavanones des orangers et citronniers sont insipides (Maor et al., 1991 ; Peterson et al., 1998). Alors que chez le Pomelo, c'est la naringine qui domine (Chinapongtitiwat et al., 2013).

Les flavanones glycosylés (Fig. 6) sont largement utilisés pour différencier entre les espèces et les variétés citricoles (Mouly et al., 1998). C'est ainsi que les hespéridines (hespéridine 7 rutinoside) et les narirutines (naringénine 7 rutinoside) sont les flavonoïdes majeurs dans les orangers et les mandariniers. Par contre, les principaux flavonoïdes rencontrés chez le pamplemoussier sont les naringines (naringénine 7 néohespéridoses) 70% et les narirutines 20% (Kawaii et al., 1999). Dans les feuilles de *Citrus sinensis*, Manthey et al. (2000) a identifié principalement des flavanones dont les composés principaux sont : hespéridine, diosmine, isorhoifolin, 6,8-di-C-glucoylapigénine, 2''-O-xylosylvitexine. La glycosylation des flavonoïdes

aglycones (Fig. 6) se fait par addition de D-glucose et L-rhamnose sur le groupement hydroxyl C7 ou dans certains cas C3 (Gattuso et al., 2007).

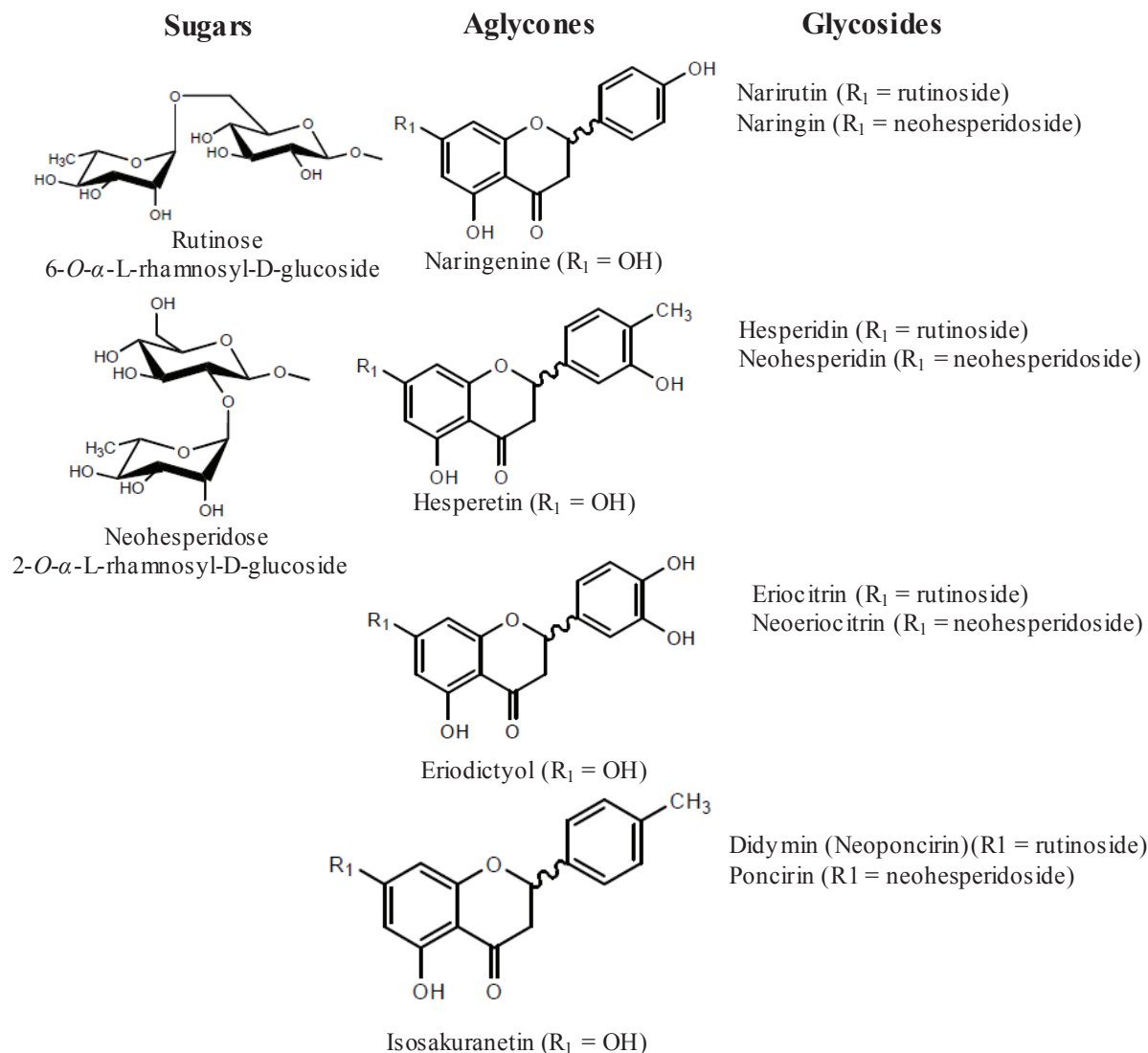


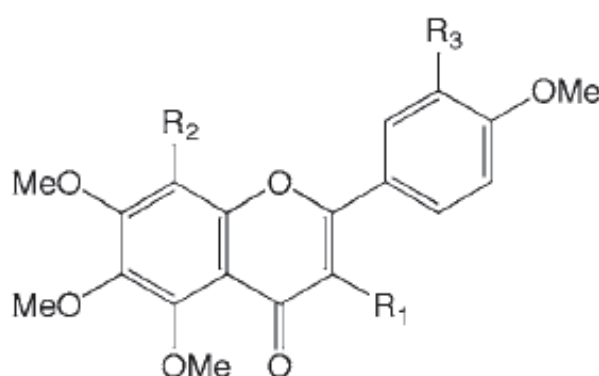
Figure 6 : Quelques flavanones aglycones et leurs glycosides respectifs.

III-5-2- Flavones

Les flavones aglycones, tels que l'acacétine (Zhang et al., 2006) et la diosmetine (Kim et al., 2004) présentent un groupement méthoxylé en position C4', tandis que le chrysoériol le montre fixé en C3'.

Les formes polyméthoxylées (Fig. 7) : tangéritine et nobilétine sont retrouvés dans la peau des fruits de *Citrus sinensis* et *C. aurantium* (Whitman et al., 2005). Ils sont également localisés dans le flavédo des fruits. Ils sont généralement utilisés pour différencier entre les jus de *C. sinensis* et *C. reticulata* (Mouly et al., 1998).

Selon Manthey et al. (2004), l'analyse par HPLC-MS a montré la présence de nouveaux flavones aglycones, indiquant la présence des flavones partiellement méthoxylés : le chrysoériol (5,7,4' trihydroxy-3'-méthoxyflavone), le limocitrine (3,7,5,4'tétrahydroxy-8,3'diméthoxyflavone) et le limocitrol (3,5,7,4'tétrahydroxy-6,8,3'triméthoxyflavone). Ces analyses ont déterminé que l'activité antioxydante des *Citrus* est attribuée aux nombreux composés mineurs présents dans la peau des fruits. Alors que des glycosides de flavones mineurs dont les composés principaux sont apigénine, diosmétine, vitéxine, isovitéxine et lutéoline ont été retrouvés dans les feuilles de *Citrus sinensis* (Manthey et al., 2000).



Composés	R1	R2	R3
Quercétogéline	OMe	H	OMe
3,3',4',5,6,7,8-Heptaméthoxyflavone	OMe	OMe	OMe
Natsudaïdaine	H	OMe	OMe
Nobiletine	H	OMe	OMe
Sinensétine	H	H	OMe
Tangerétine	H	OMe	H
Tétraméthylscutellareïne	H	H	H

Figure 7 : Flavones méthoxylés.

III-5-3- Flavonols

Le flavonol le plus commun dans l'alimentation est le quercétine, il est présent dans plusieurs fruits et légumes. Les flavonols se présentent dans les plantes sous différentes formes (Erlund, 2002). Ainsi, les flavonoïdes glycosylés des naringénines (Fig. 8), quercétines (Fig. 61) et des kampférols (Fig. 9), sont des inhibiteurs métaboliques des cytochromes P450 (Shulbert et al., 1995).

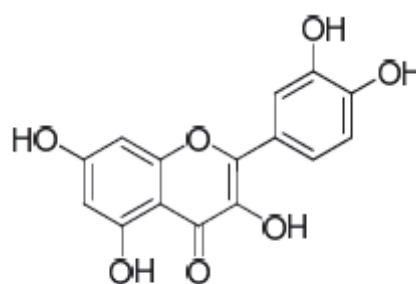
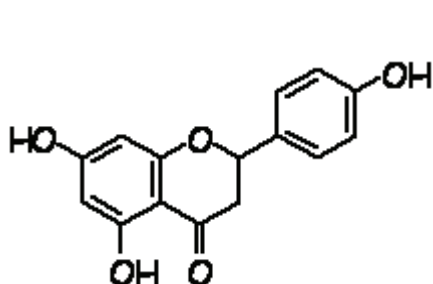


Figure 8 : Structure chimique de la naringénine. **Figure 9** : Structure chimique du kampférol.

IV- Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kyanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (Guignard, 1996). Ces composés sont connus pour être responsables, dans les pétales et les feuilles des plantes supérieures, des couleurs allant du rose au bleu en passant par le rouge, le mauve et le violet. Ils sont présents dans tous les organes végétaux supérieurs. Les anthocyanes sont également localisés dans les parties externes des fruits (Hilbert, 2002). Ils sont hydrosolubles et dissouts dans les vacuoles des cellules épidermiques (Mazza et Miniati, 1993). Ils se trouvent en grandes quantités dans les fraises et autres baies, le raisin et le thé (Nijveldt et al., 2001).

Les anthocyanes ont, comme les flavonoïdes, un squelette de base en C15 formé de deux cycles A et B, et d'un hétérocycle (cycle C) ; mais leur caractéristique principale est que ce dernier est chargé positivement. Cette charge est due à leur structure de base commune : le cation flavylum ou 2 phenyl 1-benzopyrilium ou un atome d'oxygène forme un pont entre la chaîne de carbone et le cycle A (Fig. 10). Presque toutes les gammes de couleurs des fleurs sont dues à la présence de groupes hydroxyles et/ou méthoxyles sur les cycles A et B ou sur la chaîne les reliant. Les groupes hydroxyles peuvent être glycosylés par des sucres (ce qui permet une meilleure solubilité et une grande stabilité des molécules), eux-mêmes acylés éventuellement par les acides tels que l'acide

cinnamique, caféique ou encore malonique (Donner, 1997). Les trois principaux anthocyanes sont la pélagonidine de couleur rouge-orange, la cyanidine (rouge) et la delphinidine (mauve).

L'accumulation d'anthocyanes de type cyanidines est déterminée par l'activité de flavonoïdes 3' hydroxylase (Hilbert, 2002). Ainsi, les orangers sanguines (Torocco, Sanguinello et Moro), principales variétés de *Citrus sinensis*, sont caractérisées par la couleur de la peau et de la chair de leurs fruits ; couleur due aux pigments phénoliques. Les tissus et le jus frais d'orange sanguine contiennent une prédominance de cyanidine 3 glucoside et cyanidine 3 (6''- malonyl) (Fig.) (Lo Scalzo et al., 2004).

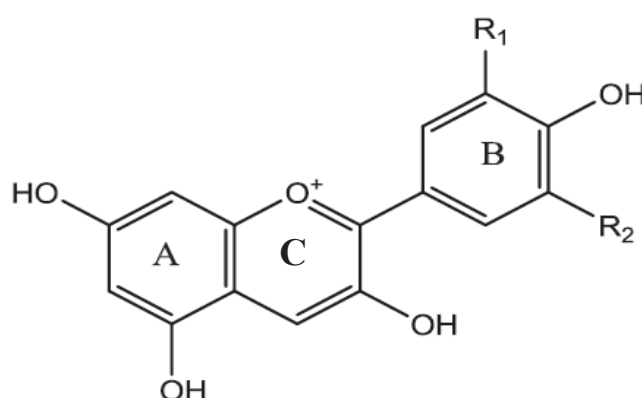


Figure 10: Le cation flavylum (2-phényl-1-benzopyrylium).

V- Les tannins

Les tannins représentent le principal groupe des composés phénoliques, avec pas moins de 4000 composés différents dénombrés dans le règne végétal (Aoki et al., 2000). Les tannins forment avec leurs dérivés la quatrième famille de composés par ordre d'abondance dans les plantes après la cellulose, la lignine et les hémicelluloses (Peronny, 2005). Dans l'énorme diversité des tannins végétaux, on distingue essentiellement deux groupes chimiques : les tannins hydrolysables et condensés.

Les tannins hydrolysés, sont généralement des esters de glucose que l'on classe en deux catégories : Les gallotannins et les ellagitannins (Fig. 11). Leur hydrolyse provoque la libération des acides tels que les acides galliques pour les gallotannins et les acides ellagiques pour les ellagitannins (Muller-Harvey, 2001 ; Kraus et al., 2004). Ils sont synthétisés par la voie de l'acide schikimique, à partir de laquelle découle l'acide gallique suite à une oxydation de l'acide 3-déshydroshikimique. Une gallolylation de l'acide gallique permet d'obtenir le β -glucogalline en présence de l'uridine diphosphate-glucose (UDP-G) qui sera par la suite transformé par addition de nouveaux groupements galloyles en : 1,6 digalloylglucose, 1,2,6 trigalloylglucose et 1,2,3,6

tétragalloylglucose. Les deux types de tannins hydrolysables (les ellagitannins et les gallotannins) sont formés à partir du « 1,2,3,4,6,- penta- D- galloyl- β -D-glucose » par l'ajout d'un autre groupement galloyle sur le noyau (Grundhofer et al., 2001).

De leur part, les tannins condensés, appelés aussi « proanthocyanidines », ce sont des polymères de flavane-3-ols, et de flavane-3,4-diols. Elles peuvent contenir dans leurs structures de deux à cinquante unités de flavanoïdes (Xie et Dixon, 2005 ; Takos et al., 2006). Leurs poids moléculaires se situent entre 5000 et 12000 daltons (Kouki et Manetas, 2002).

Les proanthocyanidines se caractérisent par une variation structurale considérable (Schofield et al, 2001 ; Xie et Dixon, 2005). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques. On distingue ainsi : la catéchine, l'épicatéchine, l'épicatéchine gallate et l'épigallocatechine (Fig. 12). Les unités monomériques sont reliées entre eux par une liaison entre le carbone 8 et le carbone 4 (C 8 - C 4) (Schofield et al., 2001).

Selon le nombre d'unités monomériques et le type de liaison qui les relient entre-elles, les tannins condensés peuvent être classés en : procyanidine, prodelpinidine, profisetinidine, prorobinetinidine (Xie et Dixon, 2005).

La biosynthèse des tannins condensés commence par l'action du flavanone 3-hydroxylase qui catalyse la transformation des flavanones en dihydroflavonols, suivi de la dihydroflavonol réductase qui vont participer à la réduction des dihydroflavonols en 2R, 3S, 4S leucoanthocyanidine. La formation des anthocyanidines se fait grâce à l'action de l'anthocyanidine synthase qui conduira par la suite à la synthèse des anthocyanines sous l'action de l'anthocyanidine glycosyltransférase. Les proanthocyanidines sont obtenus par l'action de deux enzymes : l'anthocyanidine réductase et la leucoanthocyanidine réductase pour obtenir les deux polymères des tannins condensés : – (-) Epi-flavan-3-ols et (+) - Flavan-3-ols (Dixon et al., 2004).

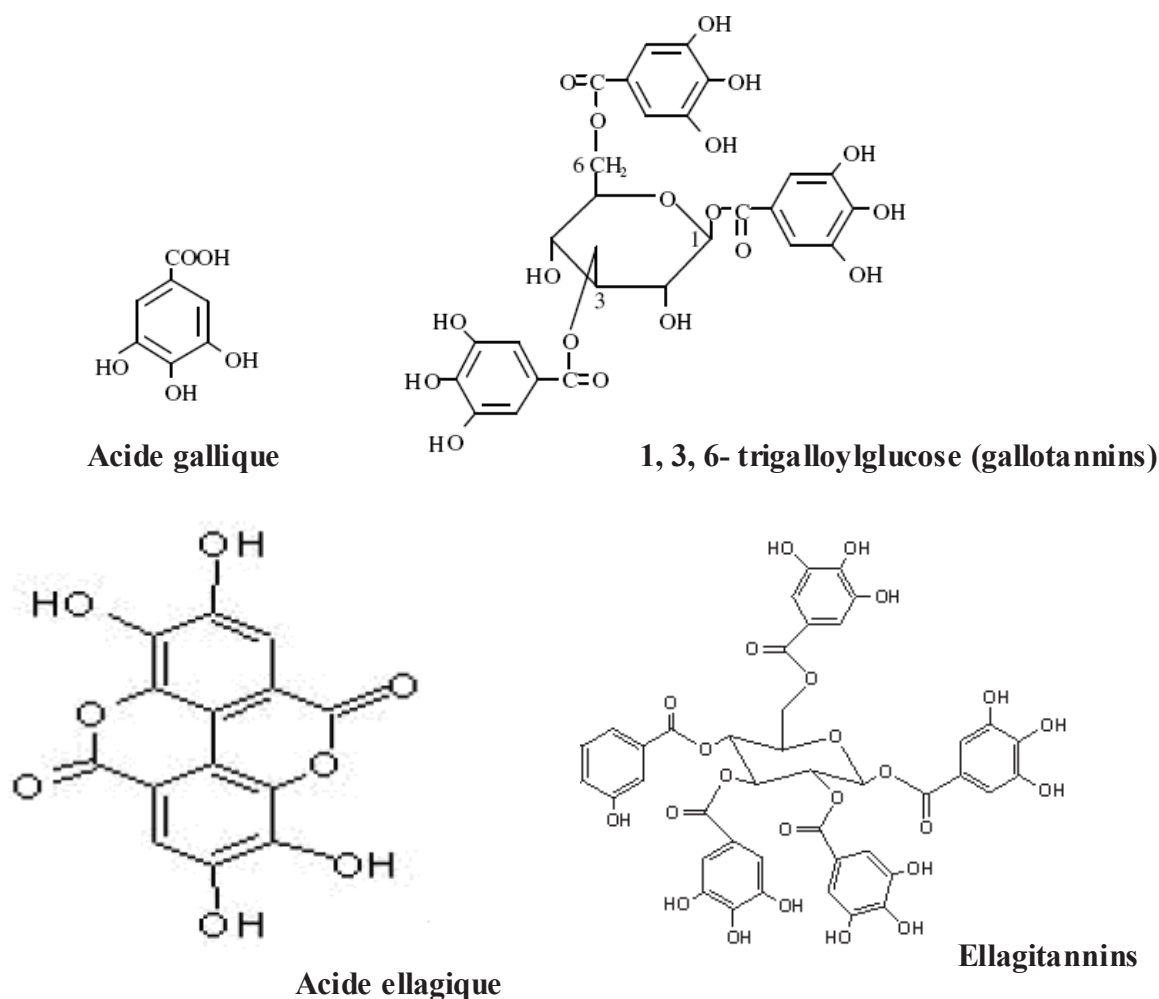
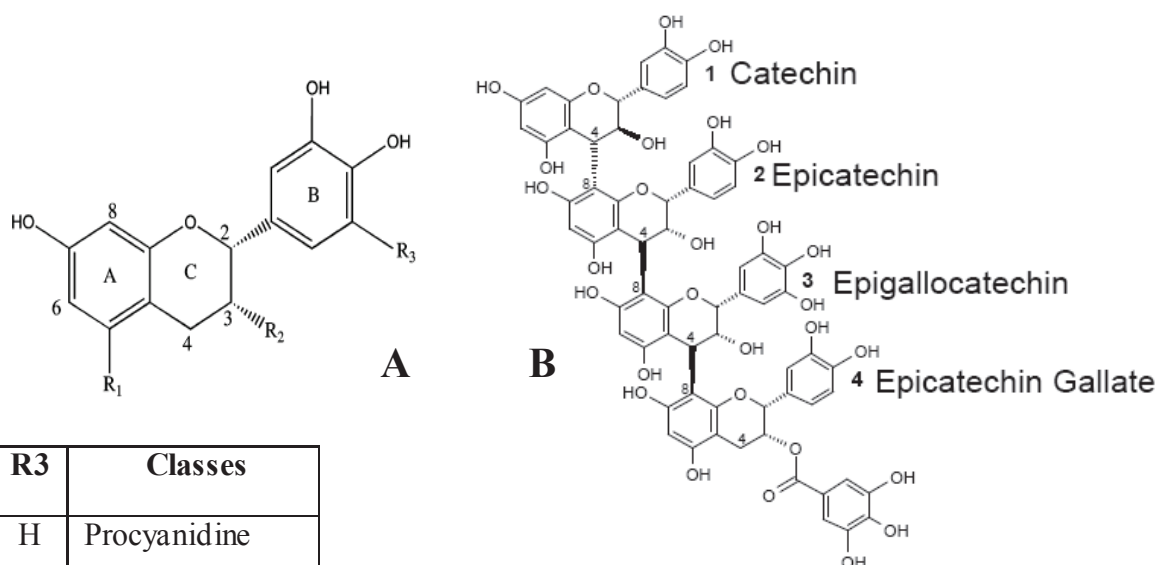


Figure 11 : Structure des tannins hydrolysables et leurs acides associés.



R1	R3	Classes
OH	H	Procyanidine
OH	OH	Prodelphinidine
H	H	Profisetinidine
H	OH	Prorobinetinidine

Figure 12 : **A)** Unité de base des tannins condensés (R1=R2=OH, R3=H :-Epicathéchine ; R2= Gallolyle : Epicathéchine gallate) ; **B)** Structure chimique des monomères constitutifs des tannins condensés (Schofield et al., 2001 ; Kraus et al., 2004).

Expérimentations

Etude expérimentale I

Impact de l'extrait phénolique des Citrus sur l'éthologie des larves de *Phyllocnistis citrella*

I- Introduction

Les ravageurs des cultures constituent l'entrave principale à l'augmentation de la production agricole. Ainsi, la protection des plantes, contre les ravageurs et les pathogènes agricoles, demeure la préoccupation principale des scientifiques de l'agriculture (Sener et al., 1998).

L'utilisation permanente, malgré efficace, des pesticides synthétiques, présente de nombreux inconvénients : le développement des contraintes de résistance aux insecticides, les coûts élevés, les risques de manipulation, les soucis concernant les résidus des insecticides et les menaces sur la santé humaine et l'environnement. Pour minimiser ces préjudices, l'alternative est d'orienter la lutte vers l'utilisation des biopesticides d'origine végétale biodégradables et respectueux de l'environnement (Elhag, 2000 ; Lamiri et al., 2001 ; Rajput et al., 2003).

Parmi les substances de défense des plantes, les nombreux composés subtils sont issus de leur métabolisme secondaire. Ces métabolites jouent un rôle comme insecticide, répulsifs d'insectes, anti-appétant (Sikos et al., 2002) et hormonal (Villalobos-Pascual et Robledo, 1998), affectent la croissance, le développement et le comportement des ravageurs (Sener et al., 1998) et/ou leur fertilité (Walling, 2000), montrent par conséquent des activités larvicides, nymphicides, adulticides (Ezeonu et al., 2001) et influencent la prise alimentaire, la métamorphose, la fécondité et l'oviposition (Elnadi et al., 2001). Jacobson (1989) indique que plus de 2000 espèces végétales possédant une activité insecticide sont déjà identifiées.

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies et la protection des cultures contre les insectes ravageurs. L'application des substances naturelles des plantes est due, au fait que les mélanges complexes des substances secondaires dans ces extraits de plantes contribuent au synergisme, qui augmente l'action commune des composés actifs sur les insectes et réduisent leurs résistances (Thoma et Callaghan, 1999), peuvent tuer rapidement ou bloquer l'alimentation des insectes juste après l'application (Tsitsimpikou et al., 2002 ; Cloyd, 2004), et assurent la protection des organismes non ciblés (humains et insectes utiles) (Akhtar and Isman, 2004).

Les données sur le rôle des composés phénoliques dans l'interaction insecte-plante deviennent de plus en plus nombreuses (Simmonds, 2003), et la capacité des flavonoïdes et des polyphénols (tannins) dans la résistance des plantes hôtes vis-à-vis des insectes est bien connue (Jhonson et al., 2002).

Les flavonoïdes sont les inhibiteurs de croissance larvaires d'*Ostrinia nubilalis* Hubner de *Lymantria dispar* L. (Abou-Zaid et al., 1993), et la chenille *Malacosoma disstria* Hubner (Benninger, 2004). Alors que ceux isolés de *Gnaphaium affine* D. (compositae) : 5-hydroxy -

3,6,7,8,4'-pentaxyflavone, 5-hydroxy - 3,6,7,8-tétraméthoxyflavone, 5,6-dihydroxy - 3,7-diméthoxyflavone et 4,4',6'-trihydroxy - 2'méthoxychalcone, ont montré une activité anti-appétente contre *Spodoptera litura* F. (Morimoto, 2000). D'autres flavonoïdes extraits des feuilles de *Nothofagus dombeyi* et de *N. pumilio* ont également montré une activité anti-appétente contre le 5^{ème} stade larvaire de *Ctenospsteustis obliquana*, il s'agit des lactones 12-hydroxyoléalonique et les pectolinarigénines isolés à partir de *N. donbeyi* et les dihydrooxylines de *N. pumilio* (Thoison, et al., 2004).

De même, les tannins agissent comme agent de défense. Ils ont la capacité de former des complexes avec les sucres et les protéines salivaires ce qui leurs confèrent une propriété d'astringence. Les enzymes digestives complexées de cette façon montrent une réduction marquée de leurs activités (Chavan et al., 2001 ; Maitra et Ray, 2003). De tels mécanismes permettraient à ces composés d'influencer, par conséquent, le développement et la fécondité de plusieurs insectes (Dixon, Xie et Sharma, 2004). La croissance réduite causée par les tannins peut provoquer une réduction dans la taille des chrysalides des femelles et un prolongement dans le temps de développement larvaire ce qui peut affectait par la suite la survie des individus de la génération subséquente (Stampa, 2003 ; Forkner et al., 2004). Ainsi, la litière de l'aulne, plante riche en polyphénols s'est révélée être douée de propriétés toxiques importantes vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* et *A. albotropus* (David et al., 2000).

Les espèces appartenant à la famille des Rutacées sont connues par la production de composés à propriétés insecticides (Siskos et al., 2002). En effet, *Melicope subunifoliolata* éprouve une forte activité anti-alimentaire contre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Curculionidae) et une très bonne activité larvicide contre *Aedes aegypti* L. (Diptera) par la synthèse d'un composé anti-insecte ; la méliternatine (3,5-diméthoxy - 3',4',6,7-bisméthylendioxyflavone) et six autres flavones mineurs polyoxygénés ont été isolés de *M. subunifoliolata* (Ho et al., 2003).

L'objectif de cette présente étude est d'évaluer l'effet insecticide de l'extrait méthanolique, à base de composés phénoliques, des feuilles de la première poussée de sève de deux espèces de *Citrus* (*C. sinensis* et *C. clementina*) sur les trois premiers âges larvaires de *Phyllocnistis citrella* (L₁, L₂ et L₃), principal ravageur des agrumes. Dans les conditions de laboratoires (*in vitro*) et en raison du mode de vie larvaire strictement endophyte, deux méthodes de traitements ont été employées : par pulvérisation de la surface foliaire et par irrigation qui permet à la solution phénolique de s'introduire à l'intérieur de la feuille par capillarité et diffusion. Les paramètres abordés concernent la mortalité cumulée et par tranche d'heures des différentes larves, la prise alimentaire et leurs évolutions biologiques, ainsi que l'efficacité de la méthode employée.

II- Site et conditions d'échantillonnage

Le site expérimental choisi (Fig. 13) correspond au verger des agrumes de la ferme expérimentale du département des sciences agronomiques de l'Université Abdelhamid Ibn Badis (Mostaganem - Algérie), dans le Nord-ouest algérien (35° 53' N, 0° 04' E, 137m d'altitude). Cette zone est caractérisée par un climat semi-aride à hiver doux.

Les parcelles d'agrumes retenues pour l'étude sont représentées par deux cultures citricoles spécifiques. Leurs arbres ont été implantés pendant l'année 1988 avec un intervalle de 7 x 7 mètres, le système de taille appliqué a permis de les maintenir à une hauteur de 2,5m environ.

L'échantillonnage foliaire réalisé, d'une manière aléatoire, a été porté sur deux poussées de sève. La première, celle de printemps, a été caractérisée par un feuillage exempt de toute infestation de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* ; alors que celle d'été, a été marquée par des infestations alarmantes causées par les différents stades larvaires du ravageur.

Cette expérimentation a été menée au laboratoire de protection des végétaux, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pendant les mois de juillet et d'août, dans les conditions de laboratoire ($27 \pm 2^\circ \text{C}$).

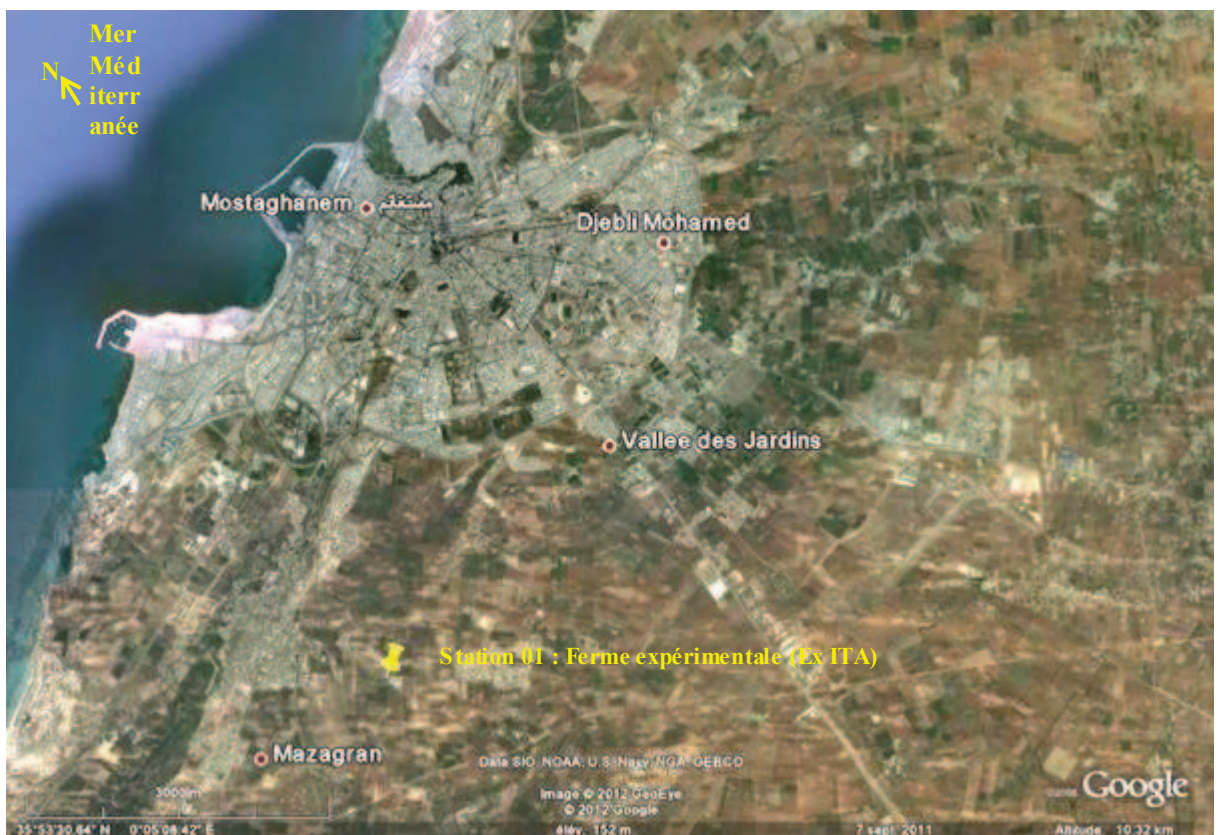


Figure 13 : Carte de situation de la station d'étude n° 01 (Ferme expérimentale ex ITA). Echelle 1/30000. Image satellitaire de Google Earth.

III- Matériels et méthodes

III-1- Matériels

Deux espèces agrumicoles ont été retenues pour l'étude : *Citrus sinensis* OSBECK (orangers) et *C. clementina* BLONCO (clémentiniers). Ces dernières ont été choisies d'une part, en égard à leur réceptivité différente vis-à-vis de *Phyllocnistis citrella* et leur disponibilité suffisante, d'autre part.

Les échantillons de feuilles provenant de la deuxième poussée de sève ont été destinés aux travaux de traitement *in vitro*, alors que le second type de feuillage, celui prélevé en printemps, a servi à la préparation de l'extrait phénolique brut.

Les âges larvaires utilisés dans cette expérimentation sont constitués par les trois premiers stades évolutifs du ravageur. Il s'agit des larves de premier (L₁), de second (L₂) et de troisième stade larvaire (L₃). Dans tous les bio-essais, le nombre des larves testées est de l'ordre de 50 individus par stade.

III-2- Méthodes

III-2-1- Extraction et préparation de la solution phénolique

Pour chacune des espèces de *Citrus* étudiées, les feuilles ont été prélevées hebdomadairement, sur les quatre points cardinaux des arbres sélectionnés pour l'étude, sur les jeunes pousses développées pendant la saison printanière. A la fin et après avoir été conservés à – 18° C, les échantillons ont été mélangés et homogénéisés afin de constituer une masse végétale représentative de la première poussée de sève.

L'opération d'extraction des composés phénoliques a été conduite en utilisant un solvant organique (Méthanol) sous agitation, selon la procédure décrite par Macheix et al. (1990) : 1 g de matière végétale, réduit en morceaux fins, a subi une extraction à froid en présence de 15ml de méthanol aqueux (80 : 20 , v/v) et 2,5ml de métabisulfite de sodium (0,5%). Après homogénéisation pendant 15 mn, le mélange a été rapidement filtré sous vide à l'aide d'un entonnoir en verre frité n° 04. Le filtrat hydro-alcoolique ainsi obtenu a été concentré par évaporation du solvant sous vide à 60° C, en utilisant un évaporateur de type Büchi, puis conservé à 4° C. Avant son utilisation, l'extrait concentré a été mélangé et ajusté à son volume initial avec de l'eau distillée.

III-2-2- Préparation du support gélosé (milieu de culture)

Le milieu de culture utilisé pour cet essai est celui mis au point par Murashigue et Skoog (1962), sans oligo-éléments (Tab. 3). A ce milieu sont additionnés 0,8% d'Agar Agar et 0,2mg/L de Kinétine.

Tableau 3 : Composition chimique du milieu de Murashigue et Skoog (1962), macro-éléments.

Sels	Concentrations mg/ml
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ , 7H ₂ O	370
CaCl ₂ , 2H ₂ O	170
KH ₂ PO ₄	440

III-2-3- Essais de laboratoire

Le mode de vie strictement endophyte de l'insecte a plaidé pour une mise au point de méthodes de traitement différentes.

Ces bio-essais ont été conduits *in vitro* pour déterminer et quantifier l'activité insecticide des composés phénoliques naturels. Dans toutes les analyses, les observations ont été notées après 6, 18, 24, 48 et 72h, en utilisant un stéréomicroscope et un microscope lorsqu'il y'a nécessité et comparées à un témoin (control) mené dans les mêmes conditions mais qu'aucune substance n'est été utilisée.

Avant de procéder aux traitements, les échantillons de feuilles contaminés ont été examinés soigneusement ; l'élimination des feuilles dont les larves sont mortes, parasitées ou prédatées constitue une étape fondamentale pour la réussite de l'essai, seules celles mentionnées saines et actives ont été prises en considération.

Il est important de signaler que l'âge, le positionnement, l'état physiologique et comportemental de chacune des larves prédisposées à l'essai ont été définis au début de l'expérimentation.

Deux méthodes de traitement ont été adoptées ; par pulvérisation et par irrigation de la solution phénolique.

III-2-3-1- Traitement par pulvérisation

Les feuilles contaminées par les différents stades larvaires ont été trempées 2 secondes dans l'extrait phénolique (comparable à une pulvérisation abondante). Elles ont été, ensuite, repiquées dans des tubes à essai remplis par le milieu de culture gélosé. Cette démarche a été entreprise pour conserver et maintenir ces feuilles intactes, au moins pendant trois jours. Une légère irrigation avec le milieu de culture liquide a été nécessaire tous les 24h.

III-2-3-2- Traitement par irrigation

Après sélection, les feuilles ont été déposées, d'une façon verticale, sur le milieu de culture gélosé à raison d'une feuille par tube (tout en faisant attention à ne pas introduire le pétiole dans le milieu). Après cette étape, une irrigation a été effectuée tout en injectant 0,5ml de la solution phénolique préalablement préparée par tube. Enfin, les tubes ont été recouverts de papier aluminium afin de limiter les oxydations qui peuvent être engendrées sous l'effet de la lumière.

III-2-4- Sensibilité larvaire

Pour comparer la sensibilité des larves de *P. citrella*, il était indispensable de déterminer l'efficacité de la solution phénolique, par méthode de traitement, sur les différents stades larvaires.

L'efficacité de chacun des traitements sur la mortalité des larves est calculée en appliquant la formule de Schneider :

$$\left(\frac{B - K}{100 - K} \right) \times 100$$

Où B est le taux d'individus morts observés dans le lot traité et K le taux d'individus morts dénombrés dans le lot témoin (Boulahia et al., 1996).

III-2-5- Prise alimentaire

En raison de la vie strictement endophyte des larves de *P. citrella*, l'évaluation de l'activité alimentaire de l'insecte via les tests, avec ou sans choix, recommandée par la littérature semble impossible. Il a été indispensable d'ajuster une démarche qui permet d'estimer le comportement des larves en présence (cas des traitements) et en absence (témoin) de la solution phénolique. De ce fait, la prise alimentaire peut être facilement vérifiée, elle est conditionnée par le déplacement et le parcours effectué par ces larves (une larve qui ne s'alimente pas, ne meut pas).

III-2-6- Evolution biologique des larves

Simultanément au cours des différentes observations, la détermination des âges des larves a été effectuée en se référant à leurs caractères morphologiques et la nature des mines tracées.

III-2-7- Analyses statistiques

Les données des traitements ont été examinées par l'analyse de la variance (ANOVA). Elle a été utilisée pour évaluer l'effet de l'extrait méthanolique sur la mortalité, la sensibilité des larves et l'efficacité de la méthode de traitement appliquée. Les résultats sont présentés en moyennes \pm écarts types. Le test de Student-Neuman-Keuls a été utilisé pour comparer ces moyennes, lorsque l'ANOVA montre une signification. $P < 0,05$ indique un effet positif.

IV- Résultats

IV-1- Mortalité larvaire

Les résultats de cette étude (Annexe 1) montrent que les composés phénoliques extraits à partir des feuilles de la première poussée de sève utilisés pour les différents traitements semblent avoir un effet sur le développement des différents stades larvaires de *P. citrella*.

IV-1-1- Orangers : *Citrus sinensis*

Les données des traitements sont consignées dans les tableaux 1 et 3 (Annexe 1).

IV-1-1-1- Traitement par pulvérisation

VI-1-1-1-1- Stade L₁

Selon le procédé de traitement appliqué, les composés phénoliques extraits des feuilles de la première poussée de sève de *Citrus sinensis* (orangers) ont agi différemment sur le comportement des larves du premier stade (L₁) de *P. citrella*. En effet, lorsque ces dernières ont été soumises à un traitement par pulvérisation de la solution (Fig. 14), l'influence des dits composés est restée sans effet pendant les premières heures du fait de leur pénétration lente. Ceci a abouti à une mortalité de l'ordre de 10% 6h après le début de l'épandage. Fait très important 18h après l'application le taux n'a pas varié. Comparativement aux premières observations, l'action semble reprendre timidement 24h après avec seulement 4% de plus, soit un taux de mortalité cumulée de 14%.

Contrairement à la première journée, et se n'est qu'après un temps relativement long que les composés phénoliques se sont mis en contact avec les larves. C'est ainsi que les plus importantes mortalités, de l'ordre de 46 et 78%, ont été comptabilisées respectivement 48 et 72h après le début des traitements. Au vu des résultats périodiques (Fig. 17), la plupart des individus L₁, morts à la fin de l'expérimentation, l'ont été pendant les tranches d'heures comprises entre 24 - 48h (37,21%) et 48 - 72h (59,26% de mortalité).

En parallèle, selon les résultats mentionnés dans la figure 14, il apparaît que les taux de mortalité cumulée sur les larves de premier stade de *Phyllocnistis citrella*, n'ayant pas subi de traitement, sont nettement inférieurs. Ce n'est que 18h après traitement qu'un taux de 4% a été observé, ne cessant d'augmenter bien que faiblement (6 et 16%, respectivement après 24 et 48h), alors qu'un maximum de 24% a été atteint de 72h après.

IV-1-1-1-2- Stade L₂

Les données du test relevées sur le lot des L₂ confirment les informations recueillies chez les L₁. En effet, au cours des premières observations, les composés phénoliques ont engendrés des mortalités comparables (Fig. 15) à ceux obtenues précédemment (L₁).

Contrairement aux L₁, aucune mortalité n'a été consignée 6h après la pulvérisation de la solution, alors que pour le témoin un taux de 2% est noté. Les observations faites 18 et 24h après sont respectivement de 10 et 18%. Après 48 et 72h, les mortalités observées ont été plus élevées atteignant respectivement 28 et 50% de l'effectif total, alors que l'écart par rapport au témoin n'est que de 20% à la fin de l'expérimentation.

Par tranches d'heures (Fig. 18), un maximum de 30,56% de mortalité a été enregistré entre 48 et 72h, soit 18,70% de moins par rapport aux L₁ (30,56% vs 59,26%), ceci montre en partie l'efficacité des composés phénoliques selon l'âge des larves de *P. citrella*.

Comme pour le stade précédent, l'extrait phénolique semble donc agir lentement à cause de la cuticule foliaire qui fait barrage.

IV-1-1-1-3- Stade L₃

D'après les figures 16 et 19, le même schéma se présente pour les L₃, avec un taux de mortalité maximum enregistré 72h après l'application de la solution soit 36%, chiffre inférieur à celui noté sur les L₁ et les L₂.

Comparativement aux autres stades, les mortalités sont relativement plus importantes pendant les premières heures et se chiffrent ainsi à 8 et 18% respectivement après 6, 18h. On remarque également que le taux de mortalité est resté inchangé après 18 et 24h, du fait que celui-ci est cumulé, ceci laisse penser qu'il n'a pas évolué.

Pour le témoin, aucune mortalité n'a été enregistrée durant les observations, à l'exception de celle de la fin de l'expérimentation (seulement 2%).

IV-1-1-2- Traitement par irrigation

IV-1-1-2-1- Stade L₁

Comparativement à la première méthode, les feuilles d'oranger contaminées par les larves L₁ et qui ont été traitées par voie d'irrigation avec l'extrait phénolique ont montré une action rapide de la solution, engendrant par conséquent un taux de mortalité de 42% 6h après l'application, alors que pour le témoin aucune mortalité n'a été observée. 18h après, une légère augmentation a été notée avec trois larves mortes parmi les 29, soit une mortalité cumulée de 48%. Ceci laisse penser que la période comprise entre 6-18h s'est élevée à un taux de 10,34%.

L'effet de la solution s'est poursuivi, plus de la moitié de la population des L₁ sont mortes 24h après traitement. Les plus fortes mortalités sont visibles 48 et 72h après avec respectivement 72 et 98% (Fig. 14). Il est important de signaler que la tranche d'heures comprise entre 48-72h après

traitement a montré toute l'efficacité de la solution avec 13 larves mortes sur un total de 14, soit un taux de 92,86%, contre 9,52% chez le témoin durant la même période (Fig. 17).

Les résultats obtenus montrent que la rémanence des composés phénoliques est reflétée par la valeur du taux de mortalité important enregistrés 72h après les applications avec la totalité des larves mortes, alors que le degré de toxicité est représenté par l'importance du niveau de mortalité (42%) 6h seulement après les traitements.

IV-1-1-2-2- Stade L₂

La figure 15 montre les taux de mortalités enregistrées sur les trois lots des larves de second stade. Il semble que l'effet de l'extrait phénolique naturel a débuté, chez les individus traités par la méthode dite d'irrigation, 6h seulement après l'application avec 60% de larves mortes, confirmant ainsi les données notées sur les L₁.

Les observations suivantes montrent que les périodes de 18, 24, 48 et 72 enregistrent des mortalités allant linéairement avec un maximum de l'ordre de 98% enregistré à la fin des essais. Toutefois, des écarts insignifiants par rapport aux témoins ont été enregistrés entre elles avec respectivement 72, 68, 64 et 68%.

Le maximum d'individus atteints est noté pendant les dernières 24h, dans la tranche d'heures comprise entre 48-72h avec 83,33% de mortalité (Fig. 18).

IV-1-1-2-3- Stade L₃

En ce qui concerne les L₃ traitées, une mortalité relativement moins importante a été constatée après 6h avec un taux de 30%, valeur inférieure à l'écart observé entre les L₁ et le témoin (42%), et largement inférieure aux L₂ (52%).

La mortalité observée 18h après l'application de la solution soit 38%, indique probablement un phénomène de résistance des larves les plus âgées. Après 24h le niveau de mortalité est resté inchangé, mais une reprise de l'effet de la solution phénolique a été constatée 48 et 72h après avec respectivement 46 et 52% d'individus éliminés (Fig. 16).

Contrairement aux L₁ et L₂, le taux de mortalité enregistré pendant les dernières 24h (48-72h) est faible avec 11,11%. Ce résultat semble donc confirmer l'influence de l'âge de la larve (Fig. 19).

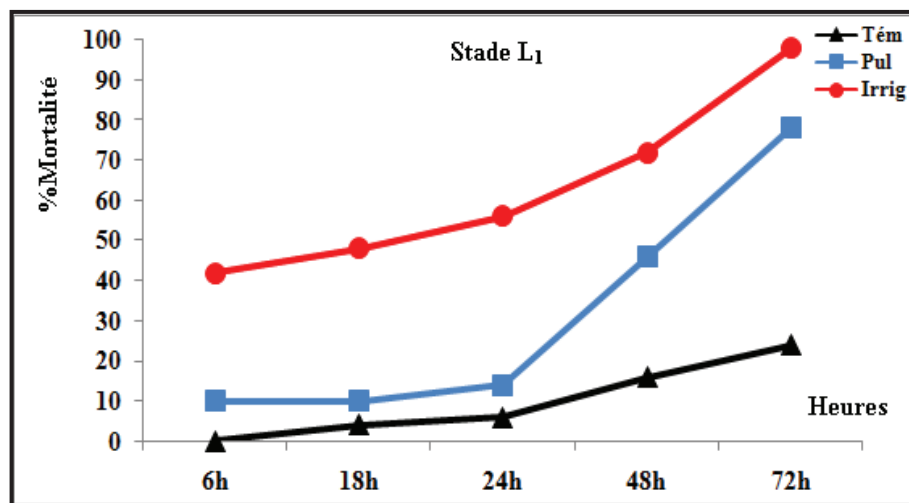


Figure 14 : Mortalités cumulées des larves de premier stade (L₁) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

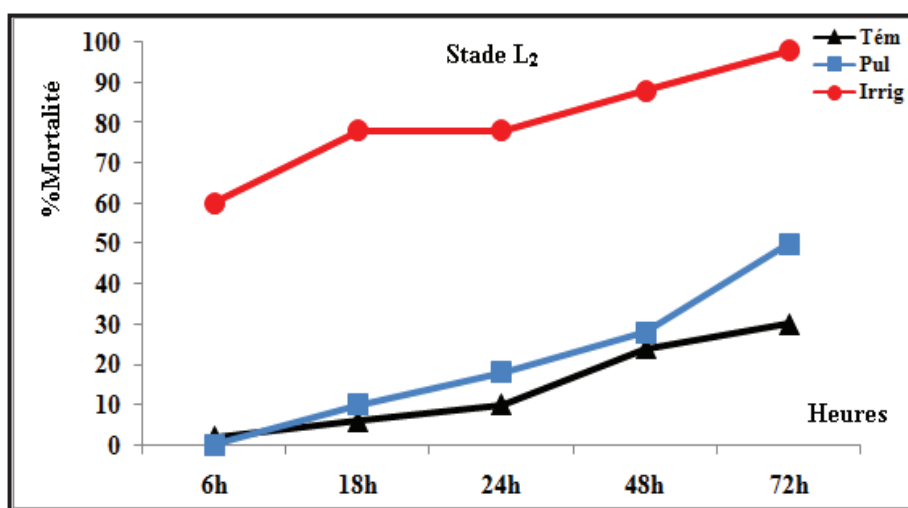


Figure 15 : Mortalités cumulées des larves de deuxième stade (L₂) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

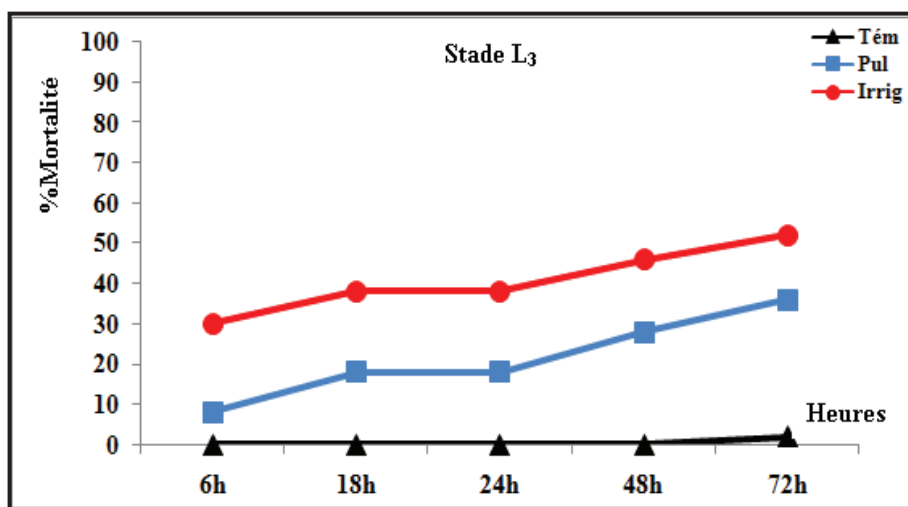


Figure 16 : Mortalités cumulées des larves de troisième stade (L₃) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

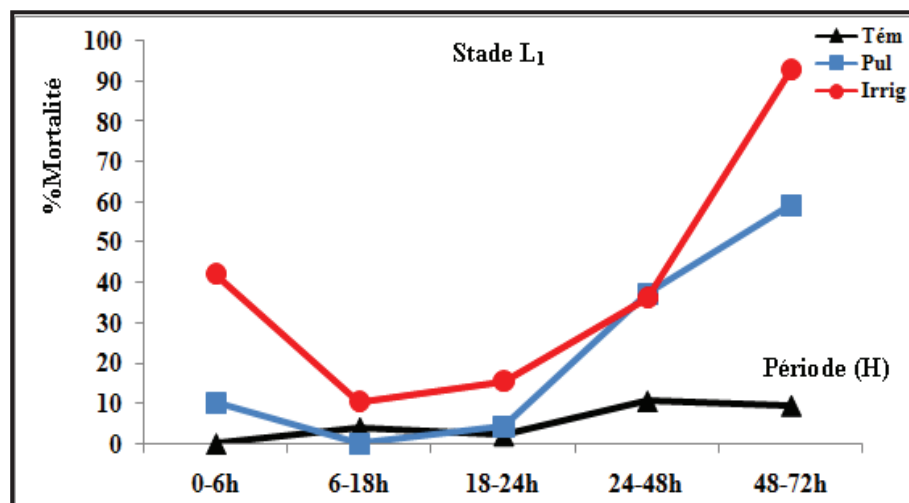


Figure 17 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de premier stade (L₁) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

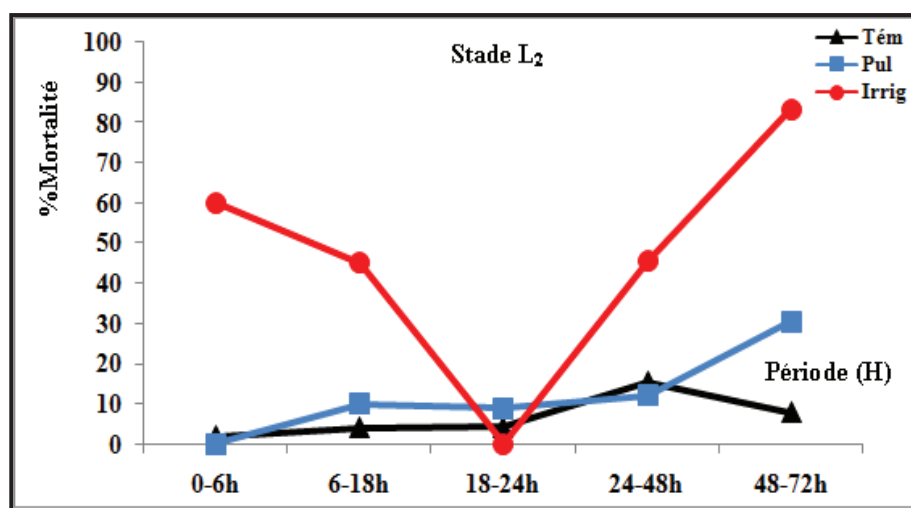


Figure 18 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de deuxième stade (L₂) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

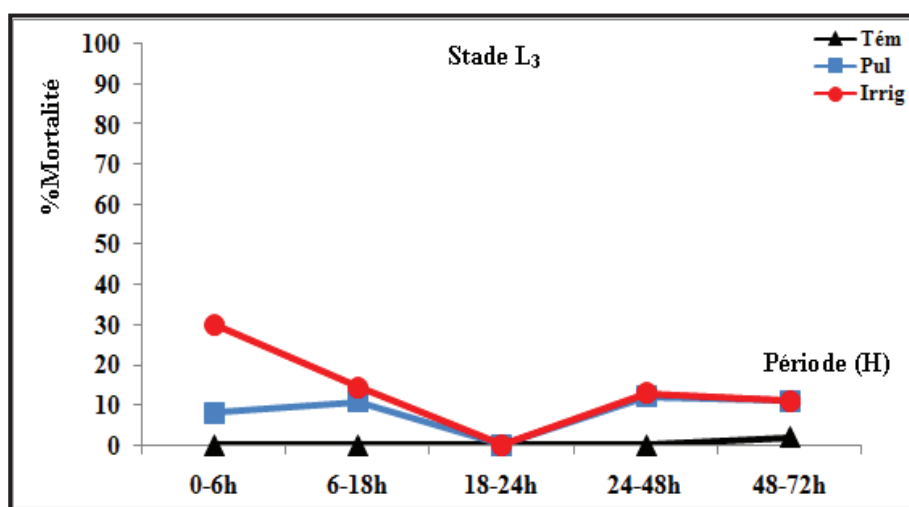


Figure 19 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de troisième stade (L₃) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

IV-1-2- Clémentiniers : *Citrus clementina*

Les résultats des traitements sont illustrés dans les tableaux 2 et 4 (Annexe 1).

IV-1-2-1- Traitement par pulvérisation

IV-1-2-1-1- Stade L₁

Tout comme l'espèce précédente, les feuilles de clémentiniers infestées par les larves de premier stade ont été traitées par pulvérisation avec les composés phénoliques extraits à partir des feuilles de la première poussée de sève.

Aucune action de la solution phénolique n'a été enregistrée 6h après son utilisation. Une légère mortalité de 10% a été observée 18h après. Ce n'est que dans la tranche de 48h que l'action proprement dite a été déclenchée d'une manière significative avec un taux de mortalité cumulé de l'ordre de 48%, alors que dans les mêmes conditions le témoin n'a enregistré que 6%, soit un écart de 42% (Fig. 20).

Le plus fort niveau de mortalité a été noté pendant la période comprise entre 24 et 48h avec 19 individus morts sur 45 soit 42,22% (Fig. 23).

Ces informations confirment les résultats obtenus précédemment indiquant une action lente de la solution phénolique appliquée par pulvérisation sur la surface foliaire.

IV-1-2-1-2- Stade L₂

Contrairement aux L₁, 6h après les applications de l'extrait phénolique sur les larves L₂, 4% de mortalité a été notée et aucune perte notée pour le témoin (Fig. 21). Les observations ont été faites 18 et 24h après montrent des écarts insignifiants entre le lot traité et celui non traité avec respectivement 4 et 2%.

L'action positive des composés phénoliques a été constatée 48h après (38% de mortalité), avec un taux de mortalité maximum de 52% observé 72h après.

Il semble que la plupart des individus morts ont été éliminés après 24h d'exposition à l'extrait (Fig. 24); pendant la tranche comprise entre 24 et 72h, 41,% de la population L₂ a été régulée (10 larves mortes entre 24-48h et 7 pendant la dernière période et cela parmi les 41 individus vivants).

IV-1-2-1-3- Stade L₃

Comme les stades précédents, l'effet de la solution phénolique s'est fait remarquer tardivement ; un taux de 2% d'individus morts est noté 6h après les pulvérisations. L'extrait semble rentré en contact avec les L₃, 24 heures seulement après les traitements, contrairement aux L₁ et L₂ dont l'effet s'est fait sentir 48h après. Ceci est dû probablement à la taille et à l'activité des L₃, dont 20% des individus sont morts 24h après les traitements (Fig. 22).

Les plus fortes mortalités ont été enregistrés 48 et 72h après l'application avec respectivement 36 et 40% soit un écart de 18 et 26% par rapport au témoin. Cependant, la période comprise entre 24 et 48h montre la plus grande action de l'extrait sur les larves L₃ (Fig. 25).

Ces résultats des traitements par pulvérisations confirment ceux obtenus sur les trois stades larvaires minant les orangers ; les composés phénoliques naturels des clémentiniers rentrent en action après un temps assez long compris entre 24 et 48h à cause de l'entrave que constitue la cuticule foliaire à la pénétration de la solution phénolique utilisée pour les traitements.

IV-1-2-2-Traitement par irrigation

IV-1-2-2-1- Stade L₁

Le test réalisé sur les feuilles de clémentiniers minées par les larves de premier stade, ayant subi une application avec la solution phénolique confirme les résultats observés sur les orangers ; la solution a un effet insecticide significatif 6h seulement après le traitement avec un taux de mortalité de 60%, alors qu'aucune mortalité n'a été enregistrée sur le lot témoin (Fig. 20).

12 heures après la première observation, 14 larves ont été retrouvées mortes sur un effectif de 20 soit un taux de 70%. Cependant, dans les mêmes conditions expérimentales, le témoin n'a enregistré que 6% soit un écart de 64%. L'action de la solution semble être plus rapide sur clémentiniers du fait de la mortalité élevée observée seulement 18h après l'application de la solution phénolique (88%) par rapport à celle enregistrée dans la même période sur orangers (48%).

24h après, la mortalité cumulée a enregistré une légère augmentation avec un écart s'élevant à 6%. Dans cette période (18-24h), 50% d'individus sont morts, ce taux important est la conséquence du faible nombre de larves vivantes (Fig. 23).

A la fin des tests (72h après), la solution phénolique a atteint la totalité des larves de premier stade ; valeur largement supérieure à celle notée sur le témoin (100 vs 18% de mortalité). Ces résultats confirment ceux obtenus sur orangers.

IV-1-2-2-2- Stade L₂

La même action se présente sur les larves de second stade, la solution réaffirme son effet insecticide 6h après son application avec 54% de mortalité. Cet état de fait continu atteignant 82% après 18h ; pendant la tranche d'heures comprise entre 6-18h, 14 larves sont mortes soit un taux de 60,87%, alors que pour le témoin, la mortalité s'élève à seulement 12% soit un écart de 48,87%. Ce taux élevé laisse penser que l'effet létal initial de l'extrait phénolique sur les L₂ a persisté jusqu'à 18h, confirmant ainsi les résultats obtenus sur les L₁.

24 heures après l'irrigation, 88% des individus présents sont morts soit un écart de 72% par rapport au témoin (16%). L'action se poursuit timidement, parmi la population restante, les 2/3 sont mortes 48h après, atteignant un maximum de 96% après 72h (Fig. 21).

Il est important de signaler que l'effet insecticide de l'extrait phénolique naturel est également important 6h après son application (Fig. 24), mais contrairement aux orangers la durée de toxicité létale initiale est assez longue (18h).

IV-1-2-2-3- Stade L₃

Le taux de mortalité enregistré 6h après le traitement apparaît faible par rapport à ce qui a été observé pour les deux stades précédents, mais supérieur à celui noté sur le témoin (Fig. 22).

18h après l'application de la solution phénolique, 82% des larves sont mortes indiquant que l'effet insecticide de contact est tardif sur les L₃ mais présente une efficacité certaine. Toutefois, pendant la période comprise entre 6 et 18h le taux a atteint la valeur de 80,49% soit 33 sur les 41 larves présentes. 48h après (Fig. 25), la totalité des larves sont mortes (100%).

D'une manière générale et contrairement au témoin, le niveau de mortalité noté au cours des observations a révélé un effet insecticide puissant sur les L₃ présentes sur les feuilles de clémentiniers.

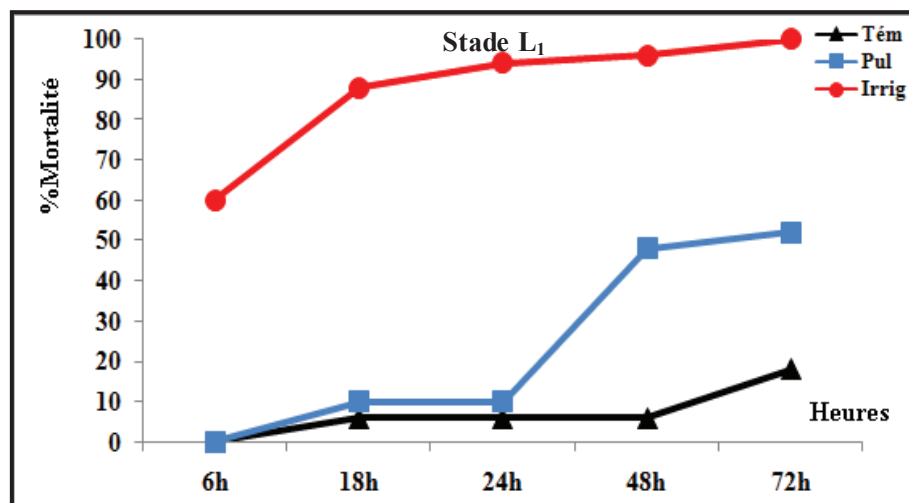


Figure 20 : Mortalités cumulées des larves de premier stade (L_1) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

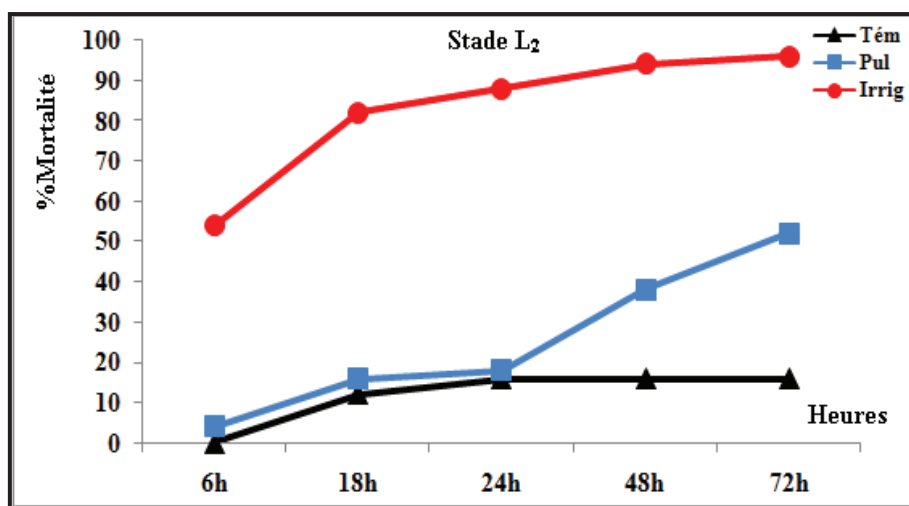


Figure 21 : Mortalités cumulées des larves de deuxième stade (L_2) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

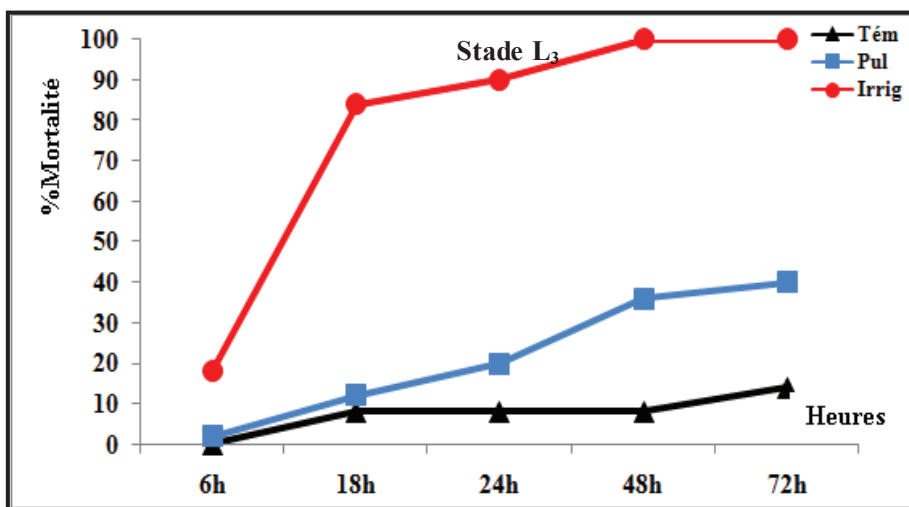


Figure 22 : Mortalités cumulées des larves de troisième stade (L_3) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

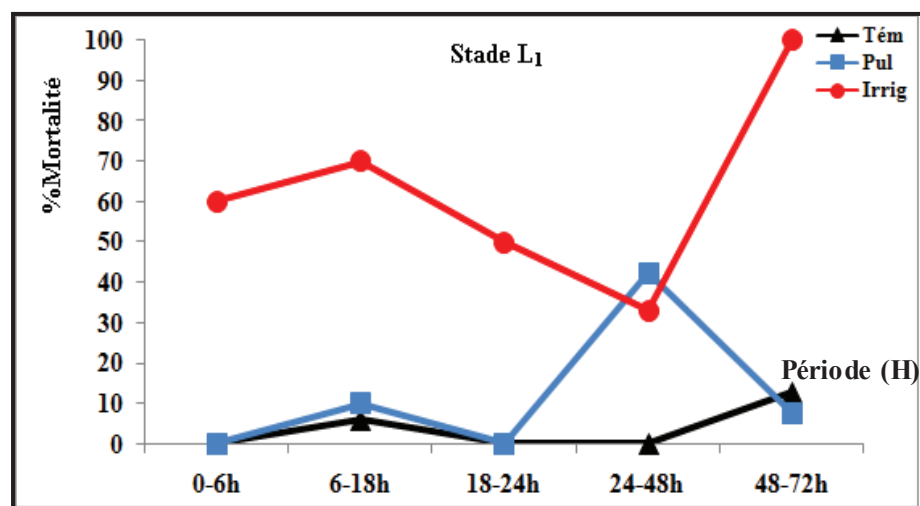


Figure 23 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de premier stade (L_1) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

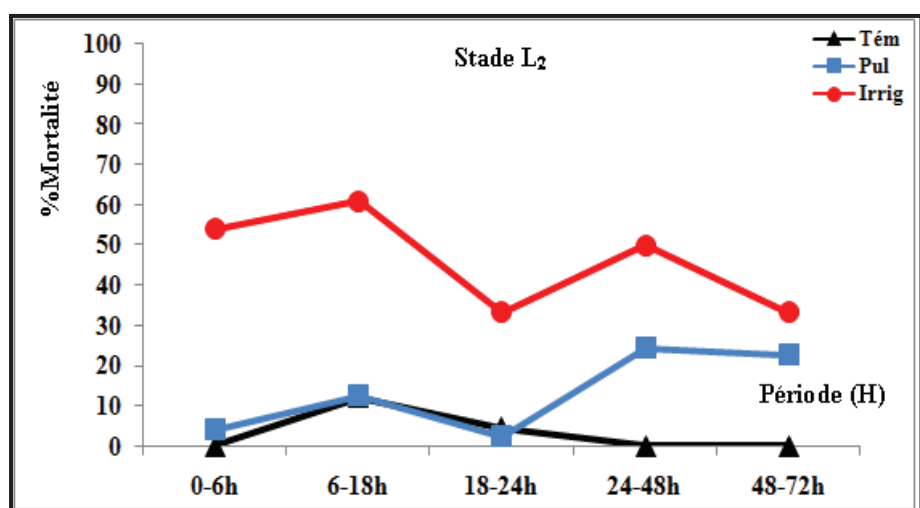


Figure 24 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de deuxième stade (L_2) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

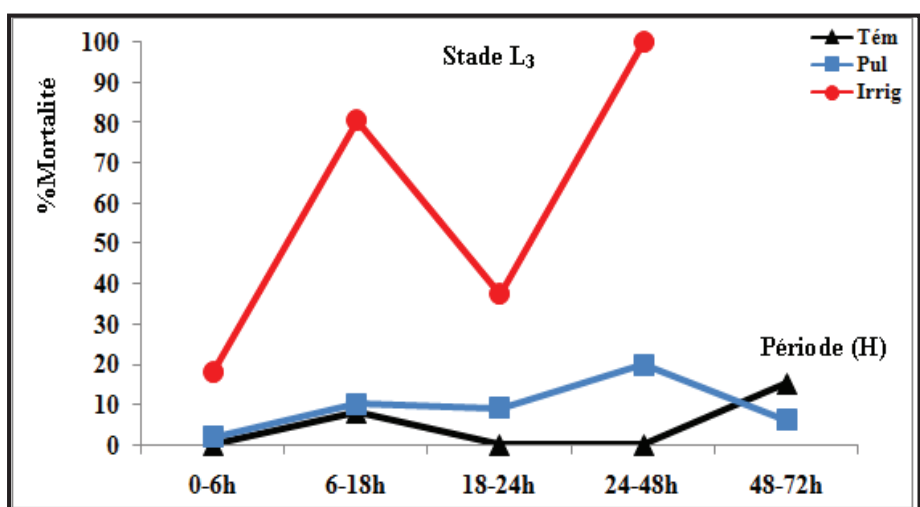


Figure 25 : Mortalités, par tranches d'heures, des larves de troisième stade (L_3) de *P. citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

IV-2- Comparaison entre les méthodes de traitements

L'objectif de cette analyse est de mettre en relief l'influence du facteur méthode de traitement (pulvérisation et irrigation) sur la mortalité et par conséquent déterminer la voie montrant plus d'effets sur les différents stades larvaires de *Phyllocnistis citrella*. Pour se faire et pour chaque mode de traitement, les mortalités enregistrées 6, 18, 24, 48 et 72 heures après l'exposition des larves à la solution phénolique ont été prise en considération et cela pour chacun des stades larvaires dont les taux ont été additionnés. Le taux de mortalité a été calculé sur la base des résultats obtenus séparément ; pour chaque type de traitement 150 larves ont été prises en considération (tous stades confondus).

Sur les tableaux 5 et 6 (Annexe 1) sont consignées les données, elles mêmes représentées graphiquement sur les figure 26, 27, 28 et 29.

IV-2-1- Orangers : *Citrus sinensis*

D'après le tableau 5 (Annexe 1), pour le témoin, la mortalité des larves de *P. citrella* a été nettement plus faible. Toutefois, en présence de l'extrait phénolique introduit par les deux voies d'application (pulvérisation et irrigation), une mortalité plus élevée a été observée.

Les mortalités obtenues (Fig. 26) suite aux applications augmentent considérablement sur les feuilles traitées par la méthode dit d'irrigation atteignant ainsi 44 – 54,66 – 57,33 et 68,66% respectivement après 6, 18, 24 et 48h et un maximum de 82,66% en fin d'expérimentation. Alors que pour le lot traité par la méthode dite par pulvérisation, la mortalité augmente timidement pendant les premières observations : 6% après 6h, 12,66 après 18h et 16,66% après 24h puis passe directement à 34% après 48h pour atteindre 54,66% en fin du test.

Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification effectués pour l'évaluation de l'effet de l'extrait phénolique sur la mortalité des larves, sont rapportés dans le tableau 9 (Annexe 2).

La valeur du facteur "Traitement" avec $F_{2,8} = 93,74$ ($P < 0,05$) est largement supérieure (≈ 23 fois plus d'effet) à la valeur critique théorique correspondant au seuil de signification $F_{2,8} = 4,08$; $P < 0,05$, ce qui traduit l'existence d'une différence significative de l'action de l'extrait sur la mortalité des différents stades larvaires étudiées.

La comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls au seuil de 5% a permis de mieux évaluer ces résultats. Les deux méthodes appliquées sont significativement différentes de leur témoin avec respectivement 61, 47% de mortalité pour les lots irrigués, 24,8% pour ceux ayant subi les pulvérisas et seulement 8,26% sur les lots non traités (Fig. 27). De plus, la mortalité entre

les deux modes de traitement est sensiblement différente et nettement plus efficace en ce qui concerne les lots traités par la méthode dite par irrigation.

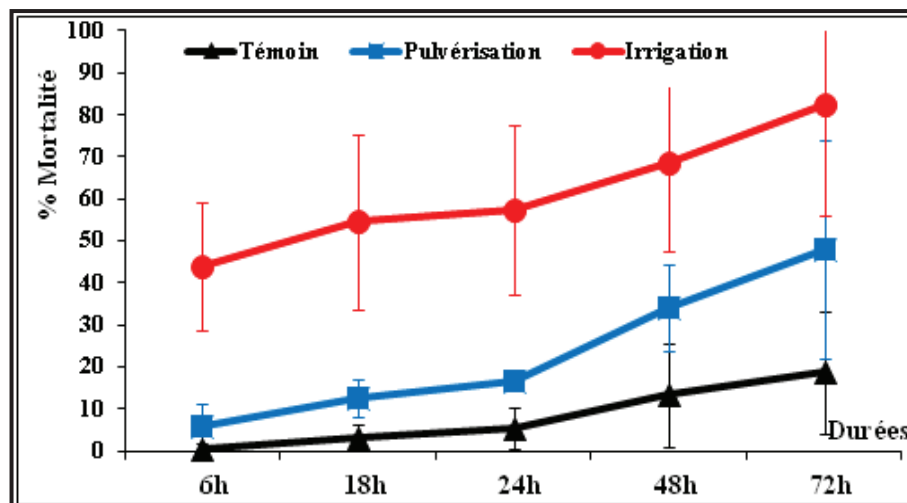


Figure 26 : Evolution de la mortalité globale de *Phyllocnistis citrella* (tous stades confondus), observée 6, 18, 24, 48 et 72h après application de l'extrait phénolique (orangers).

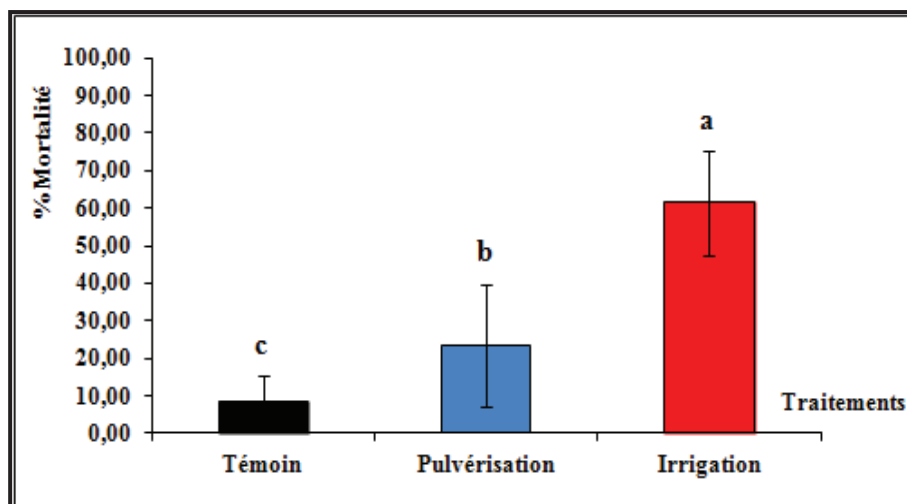


Figure 27 : Mortalités moyennes par méthode de traitement (tous stades confondus). Les Moyennes suivies des lettres différentes sont significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$) (orangers).

IV-2-2- Clémentiniers : *Citrus clementina*

Comme chez les orangers, l'analyse de la variance à deux critères de classification a mis en évidence l'effet du facteur "Traitement" avec $F_{2,8} = 32,44$. Cette valeur est 8 fois supérieure à la valeur critique théorique au seuil de signification $F_{2,8} = 4,08$ à $P < 0,05$, effet qui semble moins important que celui cité précédemment.

Les moyennes observées sur les trois lots de traitements (tous stades confondus) ont été comparées par la méthode de Newman-Keuls au seuil de signification $\alpha = 0,05$ (Tab. 9 Annexe 2).

Tout comme les orangers, l'on constate que les moyennes de mortalités des larves traitées par pulvérisation de la solution phénolique et leurs témoins respectifs sont statistiquement inégales, une différence significative a été détectée avec un écart de l'ordre de 14,90%. Ces mortalités (Fig. 29) ont été évaluées respectivement à un taux de 23,87 et 8,93%, alors que celle obtenue sur le lot irrigué (82,93%) a été largement supérieure à la moyenne du test pulvérisé et celui du témoin ; ces différences ont été révélées significatives ($P \leq 0,05$).

La période d'exposition des larves aux traitements, chez les clémentiniers, a influencé les mortalités observées sur l'essai de la méthode dite par irrigation. L'analyse des données de la mortalité provoquée par le traitement par ce type de traitement montre que la solution phénolique agit significativement dès les premières heures (18h) avec 84,66%. Cette valeur est amplement différente de celle enregistrée après 6h (26%). Le degré de toxicité de la solution appliquée par voie d'irrigation a augmenté mais légèrement. En effet, les mortalités ont évolué faiblement pour atteindre 90,66% (24h), 96,66% (48h) et enfin 98,66% en fin d'expérimentation (Fig. 28).

Malgré que l'effet toxique n'ait pas été détecté par la voie de pulvérisation, les résultats obtenus sont semblables à ceux des orangers. Les mortalités variaient d'un minimum observé 6h après l'application (2%) à 12,66 et 16% respectivement 18 et 24h après les traitements. L'action de la solution phénolique appliquée par pulvérisation a été observée tardivement : 48 et 72h après avec respectivement 40,66 et 48% de mortalité.

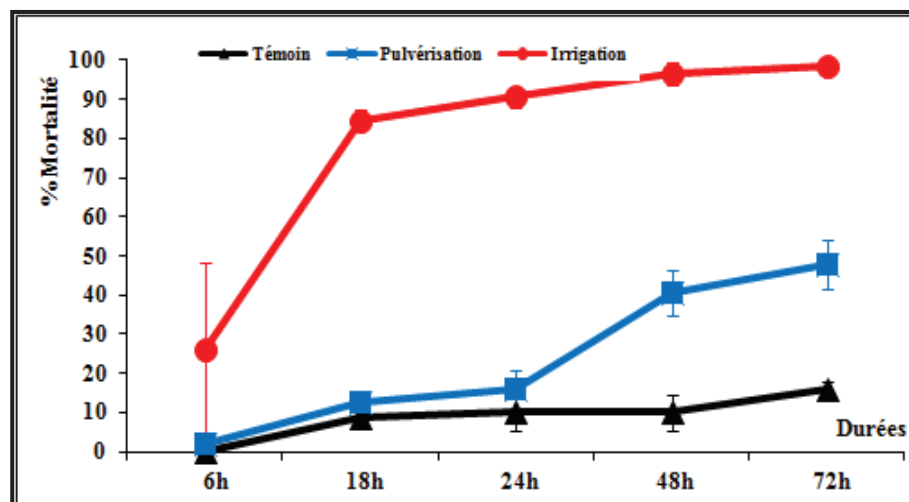


Figure 28 : Evolution de la mortalité globale de *Phyllocnistis citrella* (tous stades confondus), observée 6, 18, 24, 48 et 72h après application de l'extrait phénolique (clémentiniers).

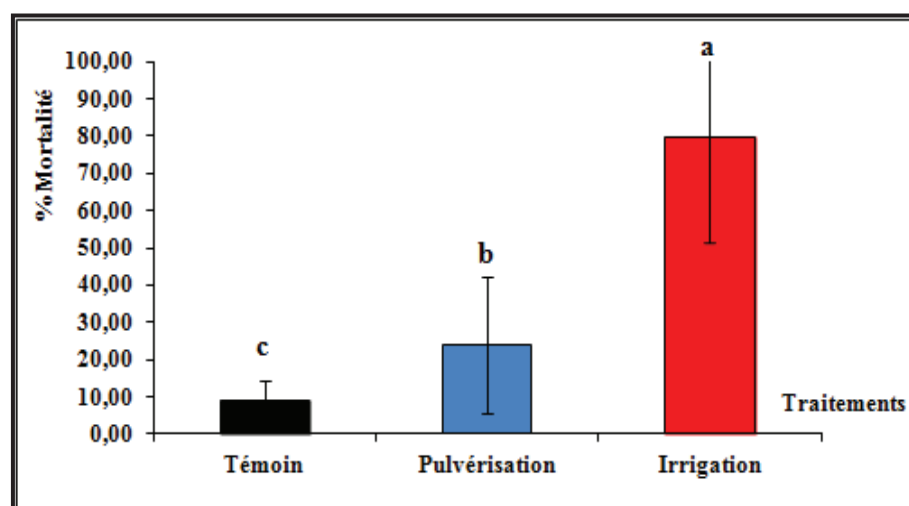


Figure 29 : Mortalités moyennes par méthode de traitement (tous stades confondus). Les Moyennes suivies des lettres différentes sont significativement différentes (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$) (clémentiniers).

IV-3- Sensibilité des larves de *P. citrella* (L₁, L₂ et L₃)

Les résultats en pourcent sont illustrés dans les tableaux 7 et 8 (Annexe 2).

IV-3-1- Orangers : *Citrus sinensis*

Selon la figure 30, il semble que le niveau de mortalité est réellement lié à l'âge de la larve, pour les deux types de traitement ; les larves les plus jeunes (L₁) sont les plus sensibles.

Pour les traitements par pulvérisation, la solution utilisée agit d'une manière significative 48h après la première intervention, contrairement aux traitements par irrigation, dont les effets sont plus intéressants 6h seulement après, avec des taux d'efficacité de 42 - 59,18 et 30% respectivement pour les L₁, L₂ et L₃. L'écart semble ainsi très important entre les deux méthodes utilisées, notamment dans la tranche 6, 18 et 24h.

L'efficacité de la solution par la méthode dite par irrigation est frappante sur les jeunes larves (L₁ et L₂) 72h après traitement contrairement aux L₃ avec respectivement 97,37 – 97,14 et 51,02%. Tandis que pour la méthode dite par pulvérisation, la mortalité la plus élevée est observée sur les L₁ (71,05%) suivi des L₃ (34,69%) et enfin des L₂ (28,57%). D'une manière générale, le degré d'efficacité est important 72h après les traitements et plus particulièrement lorsqu'il s'agit de l'irrigation du milieu avec la solution.

Le traitement des données par l'analyse de la variance montre que l'efficacité de la solution phénolique diffère significativement entre les différents stades larvaires, et cela pour les deux types de traitement confondus (Tab. 10 annexe 3). En effet, la valeur du facteur "stade larvaire" avec $F_{2,8} = 7,689$ est 2 fois supérieure à la valeur critique théorique au seuil de 0,05 ($F_{2,8} = 4,08$). La figure 31 montre que les moyennes des efficacités examinées au seuil de 0,05, sont pratiquement égales pour les larves de premier et second stade avec respectivement 43,66 et 43,95%. Par contre, la solution a engendré une action expressivement inférieure sur les L₃ (30,97%).

Dans la même perspective des analyses, l'interaction des facteurs "stade larvaire" et "méthode de traitement" (Fig. 32) a mis en évidence un effet significatif avec une valeur $F_{2,4} = 35,385$ ($P < 0,05$). En effet, sur les larves de *P. citrella* traitées (Tab. 11 annexe 3), une différence significative est notée entre les différents stades ; les L₃ se sont révélées les moins sensibles à l'application des composés phénoliques avec 40,60%, par contre la mortalité enregistrée sur les larves de second stade (L₂) est la plus élevée avec 78,52% suivi des L₁ (60,88%). Contrairement à l'irrigation, les L₁ et les L₃ traitées par pulvérisation de la solution phénolique se sont révélées statistiquement les plus sensibles avec respectivement 26,34 et 21,34% par rapport aux L₂ (9,39%).

L'efficacité de la solution phénolique semble évoluer de façon très différente selon les stades. C'est ainsi que la sensibilité des différents stades larvaires de *P. citrella* est significativement différente en fin d'expérimentation (72h), avec respectivement 84,21 – 62,86 et 42,86% ; les larves les plus jeunes se sont avérées les plus sensibles (Fig. 33).

En dépit de cette action létale différente selon les stades testés, la sensibilité des larves est restée remarquablement significative lorsqu'elles ont été exposées à la solution phénolique par la méthode dite par irrigation.

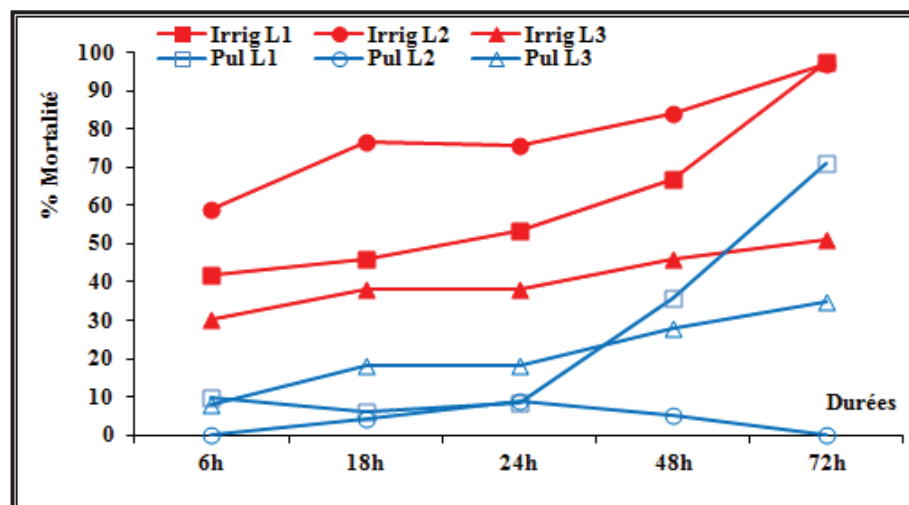


Figure 30 : Efficacité de la solution phénolique appliquée par les méthodes de pulvérisation et irrigation sur les larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (orangers).

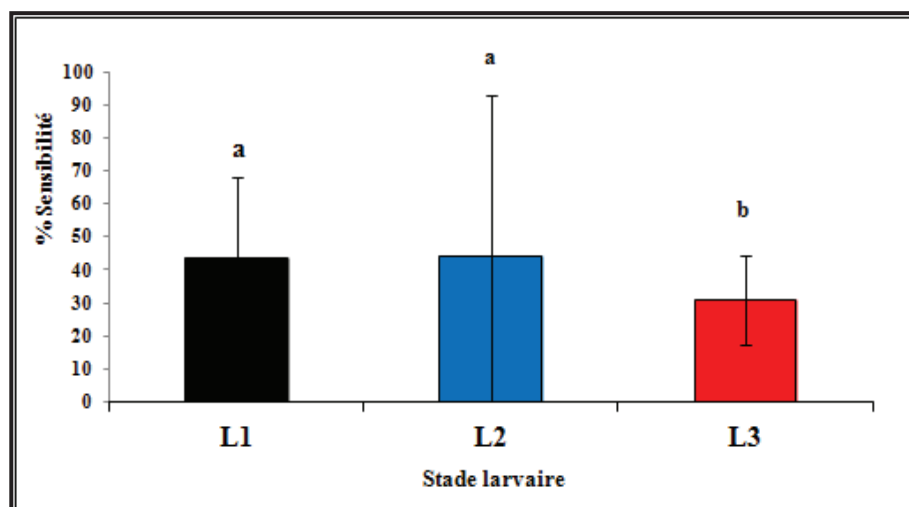


Figure 31 : Sensibilités moyennes des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (toutes méthodes confondues) (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

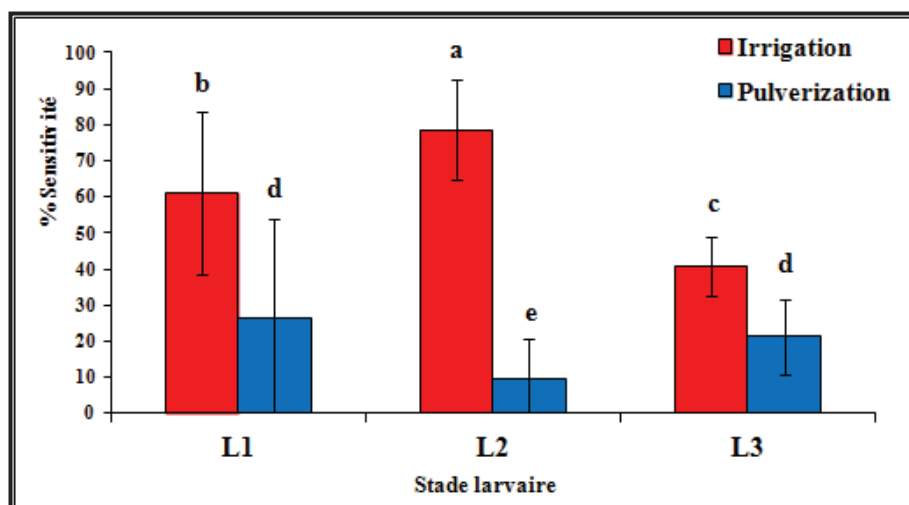


Figure 32 : Sensibilités moyennes des larves (L_1 , L_2 et L_3) de *Phyllocnistis citrella* traitées par les méthodes d'irrigation et de pulvérisation séparément (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

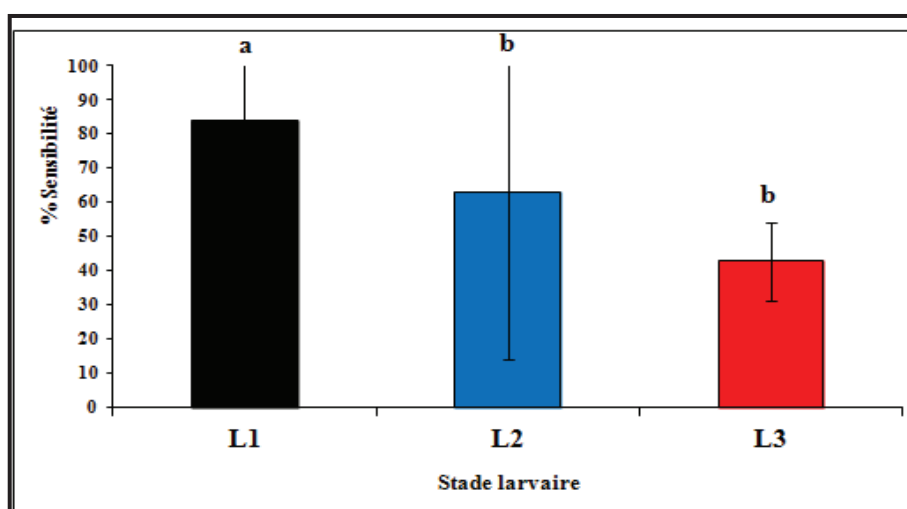


Figure 33 : Sensibilités moyennes des larves (L_1 , L_2 et L_3) de *Phyllocnistis citrella* après 72h (toutes méthodes confondues) (orangers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

IV-3-2- Clémentiniers : *Citrus clementina*

La figure 34 montre comme pour les orangers que l'efficacité des traitements par irrigation a été hautement significative 6h seulement après les applications, ce qui confirme leur intérêt par rapport aux traitements par pulvérisation.

L'efficacité de la solution après 18h d'exposition, sur les différents stades est supérieure à 90%, atteignant un maximum de 100% sur les $L_3 - L_1$ et 95% sur les L_2 , 72h après les traitements. Cependant, le niveau d'efficacité semble relativement appréciable pour les applications par pulvérisations, 48h seulement après avec des taux variant entre 26,19 et 44,68%. Curieusement 72h après, le niveau d'efficacité semble avoir très peu évolué et parfois stagné comme sur les L_3 , contrairement à l'autre méthode de traitement dont le maximum a été atteint après 72h. Ceci laisse penser que la méthode par irrigation conserve mieux la qualité de la solution phénolique, parce que probablement peu exposée à l'air et la lumière.

Les résultats des analyses de la variance montre que la valeur du facteur " Stade larvaire ", toutes méthodes confondues, avec $F_{2,8} = 1,192$ est inférieure à la valeur critique théorique ($P = 0,353$) ; aucune différence de sensibilité vis-à-vis de la solution phénolique n'a été enregistrée entre les différents âges des larves (L_1 , L_2 et L_3) de *P.citrella*. Les efficacités moyennes enregistrées sont respectivement de 53,12 – 48,73 et 46,98% (Fig. 35).

Contrairement aux orangers, en fin d'expérimentation, la solution phénolique a généré une action plus ferme sur les différents âges de larves ; aucune différence d'efficacité ($F_{2,4} = 0,719$; $P = 0,674$). Par conséquent, les sensibilités engendrées ont été de l'ordre de 70,73 – 69,05 et 65,12 respectivement chez les L_1 , L_2 et L_3 (Fig. 37).

Par ailleurs, ces sensibilités ont été largement distinctes entre les deux modes de traitement ($F_{2,4} = 4,42$; $P = 0,036$). Les larves traitées par irrigation ont montré une sensibilité affirmée par rapport à celles ayant été épandues avec la solution phénolique, avec des écarts très prononcés. Les effets ont été chiffrés à 87,32 (L_1) – 81,47 (L_2) et 77,95% (L_3) sur l'irrigué et seulement 18,93 (L_1) – 15,19 (L_2) et 16,01% (L_3) pour le lot par pulvérisation (Fig. 36).

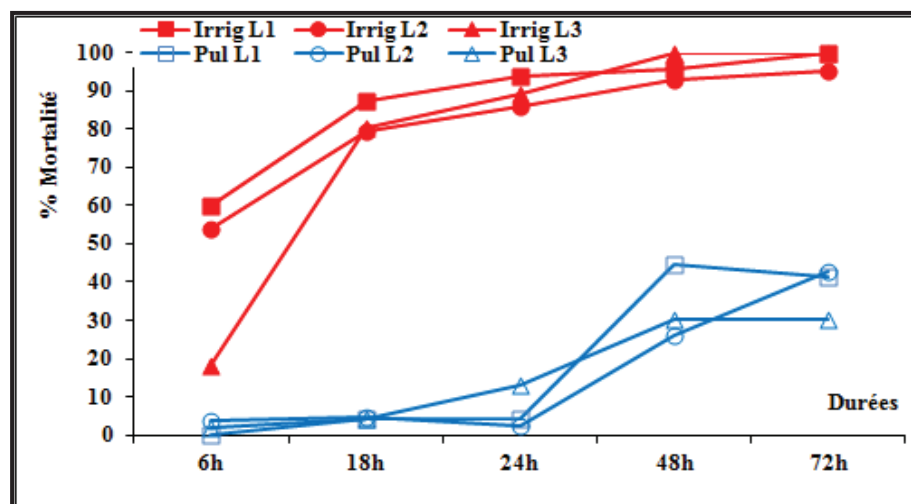


Figure 34 : Efficacité de la solution phénolique appliquée par les méthodes de pulvérisation et irrigation sur les larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (clémentiniers).

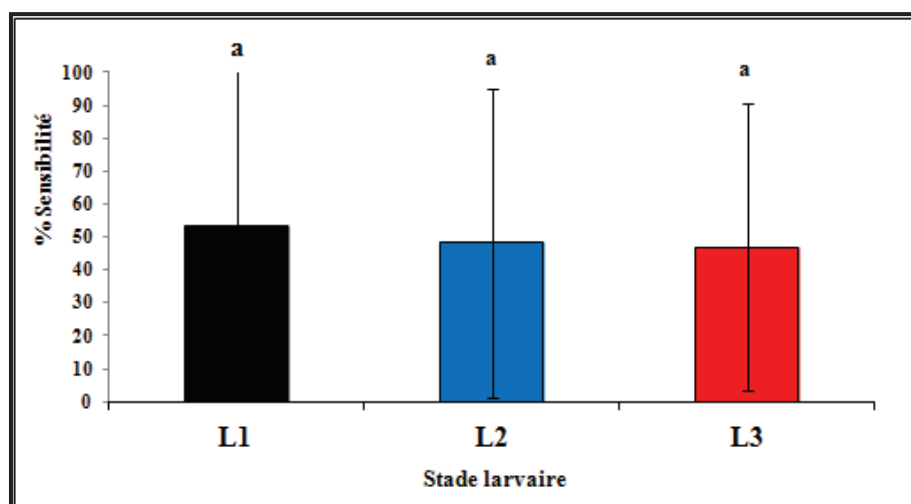


Figure 35 : Sensibilités moyennes des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (toutes méthodes confondues) (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

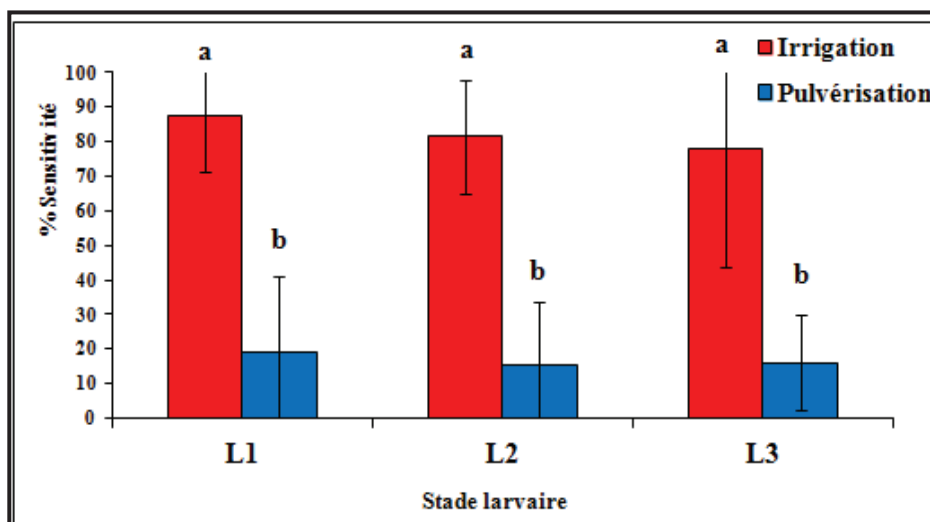


Figure 36 : Sensibilités moyennes des larves (L_1 , L_2 et L_3) de *Phyllocnistis citrella* traitées par les méthodes d'irrigation et de pulvérisation séparément (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

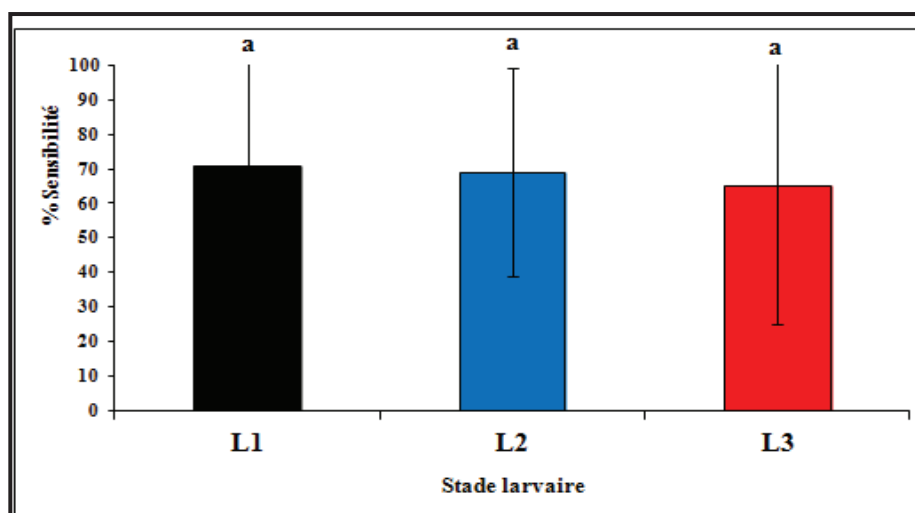


Figure 37 : Sensibilités moyennes des larves (L_1 , L_2 et L_3) de *Phyllocnistis citrella* après 72h (toutes méthodes confondues) (clémentiniers). Moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (Test de Newman-Keuls, $P < 0,05$).

IV-4- Comportement des larves

Les résultats de l'inhibition de la prise alimentaire sont représentés dans la figure 38.

IV-4-1- Orangers : *Citrus sinensis*

En exposant les différentes larves de *P. citrella* à la solution phénolique (Fig. 38A), le comportement de celles-ci a montré des réponses différentes et cela en fonction de la méthode de traitement.

Sur les différents types de larves traitées par irrigation, l'effet le plus marquant fût que la majorité des larves arrêtaient immédiatement de se nourrir et de se mouvoir 6h après l'application.

Les résultats observés sur les trois stades larvaires montrent clairement les effets simultanés de la toxicité et de l'inhibition de la prise alimentaire, provoquées par la solution phénolique pendant les premières heures. En effet, 6h après l'irrigation, 94% des larves de premier stade (L_1) ont été inhibées parmi lesquelles 42% des individus sont inertes, soit un écart de 52% représentant le taux de larves dont la prise alimentaire a été bloquée par l'addition de la solution phénolique. Parallèlement, le témoin n'a enregistré que 10% d'inhibition.

Après 18h, les larves semblent avoir été contraintes à assimiler la solution introduite ; une proportion de L_1 (26%) s'est remise à la nourriture. Après la phase des 18h, l'effet inhibiteur disparaît, laissant place à l'effet toxique en raison de la mortalité importante enregistrée sur les observations effectuées. Cependant, le lot témoin montre une activité tout à fait normale des L_1 tout au long de l'expérimentation.

Tout comme les L_1 , les larves de second stade ont été sensiblement affectées par la solution phénolique, c'est ainsi que 88% des individus testés ont été inhibés 6h après le traitement. Ces résultats peuvent s'expliquer par la capacité de la solution phénolique à empêcher la prise alimentaire des L_2 , alors que 20% seulement des larves témoins présentaient le même état.

Le même taux d'inhibition (88%) a été enregistré 18 et 24h après, provoquant ainsi des perturbations dans leur développement physiologique avec pour conséquence une mortalité importante (78%). Dans la tranche d'heure comprise entre 24 et 48h, 6% de larves ont pu reprendre leur activité. Contrairement à celles traitées, l'activité des individus sur le lot témoin est importante pendant les premières heures, alors qu'elle commence à diminuer à partir de 24h, du fait de l'évolution au stade suivant.

Outre les effets toxiques, des effets sur la prise alimentaire ont été également observés sur les larves de troisième âge ; l'extrait phénolique a perturbé la prise de nourriture de 68% des larves

testées seulement 6h après le traitement par irrigation, alors que le témoin n'a enregistré aucune inhibition.

Contrairement à la technique précédente (irrigation), l'effet dissuasive de la solution phénolique, appliquée par la méthode de pulvérisation, sur la prise de nourriture est bien visible sur les L₂, mais difficilement apparent sur les L₂ et les L₃.

Le taux d'inhibition enregistré, 6h après le traitement, est de l'ordre de 46% ; valeur largement supérieure à celle notée sur les témoins et sensiblement faible par rapport à celle obtenue par la méthode dite par irrigation. Il faut souligner, également, que la proportion de larves bloquées est restée pratiquement inchangée 18 et 24h après.

Pour la tranche des 48h et 72h, ont été notées respectivement des taux de 54 et 20% de larves en activité. Parallèlement, les individus des témoins ont été plus actives et cela pendant toute la période des observations.

Aucune activité de l'inhibition de la prise alimentaire n'a été enregistrée sur les larves de second et troisième stade, la proportion de larves en activité est pratiquement la même entre les larves traitées et leurs témoins respectifs (36 contre 42% pour les L₂ et 30 contre 24% pour les L₃).

IV-4-2- Clémentiniers : *Citrus clementina*

Tout comme les orangers, les larves de *P. citrella* minant les jeunes feuilles de clémentiniers se comportent différemment en fonction de la méthode de traitement appliquée.

En plus des effets toxiques, des cas de cessation de prise alimentaire ont été observés sur les larves de *P. citrella* traitées par irrigation.

Selon la figure 38B, il a été aperçu que l'extrait phénolique réduit significativement la prise alimentaire de 84% des L₁ après seulement 6h d'application, alors que le témoin dans les mêmes conditions n'a engendré que 18%.

Comme rapporté précédemment, les larves encore vivantes ont pu reprendre leur activité 48h après (2%).

Les données des bio-essais montrent que l'application de la solution phénolique sur les larves de second stade (L₂) présente un agissement négatif sur la prise de nourriture de l'ordre de 82% 6h après irrigation, perturbant ainsi leur développement physiologique avec pour conséquence une mortalité de l'ordre de 54%. Parallèlement, le témoin n'a enregistré que 26% d'inhibition. La reprise alimentaire a été observée 18h après l'application du traitement.

Le même effet a été observé sur les L₃ présentes sur les feuilles de clémentiniers, 78% des larves subissent l'effet inhibiteur contrairement aux témoins (12%). Il faut souligner, également, que parmi les larves inhibées 18% d'entre elles sont mortes.

Par ailleurs, sur les différents stades traités par la méthode dite par pulvérisation, aucune différence significative sur le comportement des larves n'a été observée entre les lots traités et leurs témoins respectifs.

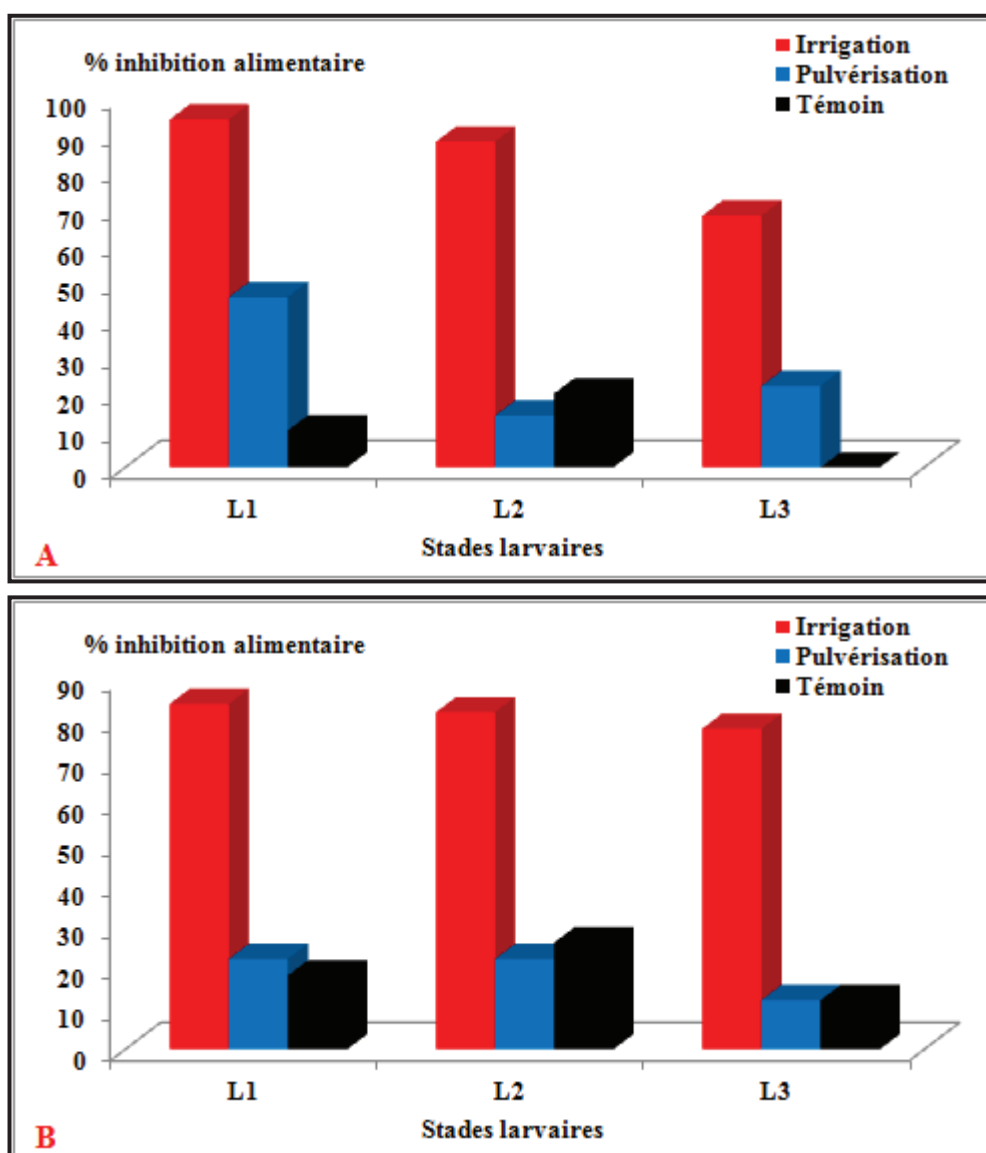


Figure 38 : Effet comparatif de l'extrait phénolique sur la prise alimentaire des larves de *P. citrella*, 6h après traitement (A = orangers et B = clémentiniers).

IV-5- Evolution biologique des larves

Il est important de signaler que l'impact de la solution phénolique des feuilles des agrumes sur la mue des larves n'a pu être évalué, en raison des fortes mortalités engendrées (Fig. 4 ; 5). Néanmoins, sur les feuilles des orangers (Tab. 4), il a surtout porté sur la physiologie des larves du troisième stade ; une évolution rapide des L₃ traitées par la méthode dite par irrigation a été observée par rapport aux témoins. En effet, 6h après l'exposition aux composés phénoliques, 6% des larves vivantes ont mué au stade pré-nymphe (stade où les individus arrêtent de se nourrir), comparativement au témoin dont aucune métamorphose n'a été discernée. Cette constatation a été également observée après 18 et 24h où il a été enregistré respectivement 16 (12% L₄ et 4% Nymphes) et 24% (18% L₄ et 6% Nymphes) de larves vivantes ayant évoluées, contrairement au témoin 8 (L₄) et 16% (L₄) dans les mêmes périodes.

Tableau 4 : Evolution biologique des larves de *P. citrella* après application de la solution phénolique (orangers).

Stades	L1			L2			L3		
	Tém.%	Pul.%	Irrig.%	Tém.%	Pul.%	Irrig.%	Tém.%	Pul.%	Irrig.%
6h	-	-	-	-	-	-	-	-	6 L ₄
18h	-	-	-	-	-	-	8 L ₄	2 Ny	12 L ₄ +4 Ny
24h	-	-	-	-	-	-	16 L ₄	4 L ₄ +2 Ny	18 L ₄ +6 Ny
48h	-	-	-	6 L ₄ +22 Ny	-	-	12 L ₄ +56 Ny	20 L ₄ +20 Ny	24 L ₄ +8 Ny
72h	-	2 Ny	-	4 L ₄ +30 Ny	8 L ₄ +4 Ny	-	4 L ₄ +68 Ny	20 L ₄ +42 Ny	12 L ₄ +32 Ny

Tableau 5 : Evolution biologique des larves de *P. citrella* après application de la solution phénolique (clémentiniers).

Stades	L1			L2			L3		
	Tém.%	Pul.%	Irrig.%	Tém.%	Pul.%	Irrig.%	Tém.%	Pul.%	Irrig.%
6h	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18h	-	-	-	-	-	-	20 L ₄	6 L ₄	-
24h	-	-	-	-	2 L ₄	-	18 L ₄ +8 Ny	26 L ₄ +2 Ny	-
48h	-	-	-	4 L ₄	2 Ny	-	24 L ₄ +24 Ny	14 L ₄ +34 Ny	-
72h	-	-	-	22 L ₄ +2 Ny	2 L ₄ +2 Ny	-	24 L ₄ +26 Ny	10 L ₄ +48 Ny	-

V- Discussion

Les nombreux travaux réalisés, sur la mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella*, ont été surtout consacrés à l'étude de sa Biologie et à la dynamique de ses populations (Ba-angood, 1977 ; Berkani, 2003 ; Grafton-Cardwell et al., 2008), ainsi que les différentes stratégies de lutte (Boualem et al., 2007 ; Amiri-Besheli, 2008 ; Argolo et al., 2013). Néanmoins, jusqu'à présent, quelques informations ont été rapportées au sujet de la résistance des agrumes contre ce ravageur des cultures (Sandhu et Batra, 1978 ; Bernet et al., 2005 ; Deng et al., 2010 ; Santos et al., 2011). Cependant, l'effet antibiose, l'un des modes de la résistance des plantes contre les insectes phytophages (Mauricio et al., 1997) n'a fait l'objet, à notre connaissance, d'aucune orientation de recherche.

Dans le domaine de la protection des cultures contre les insectes nuisibles, diverses méthodes ont été employées pour lutter contre la propagation de la mineuse des feuilles d'agrumes. Parmi lesquelles, plusieurs matières actives à large spectre d'action ont alors été testées (Heppner, 1993 ; Zhang et al., 1994). Les insecticides et les mélanges de divers insecticides ont été évalués et signalés affectifs par de nombreux chercheurs à travers le monde (Boualahia et al., 1996 ; Rezk et al., 1996) du fait qu'ils réduisent considérablement la population du ravageur par rapport aux plants non traités. Alors que d'autres jugent inefficaces (Mafi et Ohbayashi, 2006), en raison de leur faible rémanence et l'exigence d'étendre plusieurs pulvérisations afin de couvrir toutes les périodes d'émission des jeunes pousses (Knapp et al., 1996). En revanche, la lutte biologique, qui par l'utilisation des ennemis naturels (Lim et al., 2006), les bactéries (Campos et al., 2007 ; Amiri-Besheli, 2008), les champignons entomopathogènes (Mohammadi et al., 2010) et les phéromones sexuelles de l'insecte (Stelenski et Czokajlo, 2010 ; Lapointe et Stelinski, 2011), a été jugée comme étant la meilleure option pour la régulation des populations de ce ravageur (Pěna, 1997). Pourtant la lutte effective contre ce phytophage demeure, à ce jour, très compliquée en raison de sa forte capacité de migration vers d'autres vergers, sa fécondité très élevée notamment en été (Amiri-Besheli, 2010), la présence d'une cuticule protégeant les larves contre le contact direct avec les produits chimiques (Raga et al., 2001), et sa capacité de développer une résistance aux insecticides synthétiques rend la lutte difficile (Mafi et Ohbayashi, 2006).

Dans cette présente étude, l'effet antibiose se réfère à l'action chimique des composés phénoliques totaux résultant de l'extraction des feuilles d'agrumes de la première poussée de sève contre les larves *P. citrella* (L₁ - L₂ - L₃).

Les résultats de cette étude ont montré que les méthodes de traitements préconisés (pulvérisation et irrigation) ont répondu différemment. En effet, Pendant les premières heures, du

fait de la pénétration lente de la solution phénolique, le traitement par pulvérisation a enregistré une mortalité faible sur les trois stades de larves, et ce n'est qu'après un temps relativement long que le contact avec ces dernières s'est produit. Dans leur travaux portant sur la gestion des populations de *P. citrella*, Hoy et Ngueu (1994) ; Knapp et al. (1994) rapportent que la lutte chimique par pulvérisation directe des insecticides sur la surface foliaire est difficile en raison de leurs lentes pénétrations ; la cuticule foliaire et les bordures des feuilles enroulées forment des obstacles et par conséquent protègent les larves et les chrysalides. Alors que la méthode dite par irrigation a montré toute l'efficacité de la solution phénolique, engendrant ainsi une mortalité importante. Ceci s'explique par la capacité des feuilles à faciliter le transit des composés phénoliques naturels dissous dans l'eau à travers les faisceaux cribro-vasculaires des pédoncules des feuilles, pour être ensuite dilués dans la sève, atteignant rapidement les différents stades biologiques. Ces données corroborent ceux obtenues par Mansanèt et al. (1999), avec leurs propriétés systémiques, l'entraînement des insecticides avec l'eau d'irrigation, ou leurs applications sur le tronc et par badigeonnage, dans les vergers citricoles, a montré un niveau de contrôle, des populations de la mineuse des agrumes, satisfaisant sur les jeunes arbres.

Sur les deux espèces d'agrumes (orangers et clémentiniers), les résultats montrent que la rémanence des composés phénoliques est reflétée par la valeur des taux de mortalité importants enregistrés après 3 jours d'exposition, avec une efficacité frappante donnée par la méthode dite par irrigation. Cette dernière a provoqué la mort de la quasi-totalité des larves testées, contrairement à la méthode dite par pulvérisation où les données de la mortalité sont relativement de moindre importance. Cette différence semble expliquer en outre, la biodégradabilité des composés phénoliques qui peut être causée par photo-oxydation et par intervention de l'oxygène moléculaire dans la destruction de ces molécules riches en groupements hydroxyles.

Approximativement, des résultats comparables ont été obtenus au laboratoire. Lorsque les feuilles d'agrumes portant les larves du deuxième et troisième âge de *P. citrella* ont subi des pulvérisations aux bio-pesticides, la période maximale pour une efficacité optimale n'a été obtenue qu'après 3 jours de traitement, quelque soit le bio-insecticide utilisé (Amiri-Besheli, 2008). D'autres bio-pesticides comme Spinosyne, Palizin, Sirinol, Methoxifenozone et Tondoxir sans huiles minérales ont été considérés plus efficaces à l'égard des larves L₂ et L₃ de *Phyllocnistis citrella* (Amiri-Besheli, 2009). Mafi et Ohbayashi (2006) ont constaté, à l'aide des bio-essais de trempage, que tous les insecticides testés avaient engendré un pourcentage de mortalité dépassant 90% des larves de premier stade. Alors qu'*in situ*, les meilleurs insecticides foliaires ne confèrent que deux semaines de protection contre les attaques de *P. citrella* (Michaud et Grant, 2003).

Concernant la sensibilité des larves aux composés phénoliques totaux de la poussée printanière, la différence observée semble être liée à l'âge des larves de *P. citrella*. C'est ainsi que les plus jeunes sont les plus sensibles, ces informations confirment leurs sensibilités vis-à-vis des insecticides synthétiques (Boulahia et al., 1996). Cette inégalité de sensibilité est due, probablement, à l'incapacité que possèdent les individus jeunes à dégrader les produits toxiques et/ou à maintenir normalement les changements physiologiques. Selon Ould Elhadj et al. (2003), les larves de cinquième âge se sont montrées plus sensibles, aux extraits végétaux, par rapport aux criquets adultes, et cela grâce à des enzymes détoxifiants (Djobbihoi et Fuzeau-Braesch, 1979 ; Douaho et al., 1982). Les L₅ traités au neem ou au méliá, meurent par incapacité de muer. Doumbia (1994) dans ses études sur les effets de *Melia azedarach* sur les larves du criquet pèlerin, révèle qu'une mortalité de 60% est obtenue par suite de blocage de mue. Les survivants, soit 40%, ont montré des déformations liées aux difficultés de la mue imaginale.

Après avoir détecté les composés phénoliques, les larves de *P. citrella* se sont arrêtées immédiatement de se nourrir et par conséquent de se mouvoir. Ce refus de consommer la sève est très visible au début des observations sur les larves traitées par la méthode dite par irrigation. Il indique l'effet dissuasif des substances du métabolisme secondaire de la première poussée de sève, propres à ces deux espèces végétales. Elles inhibent la prise de nourriture chez les larves de *P. citrella*. Cette cessation peut être due à la présence dans les extraits des substances particulières qui entraînent par conséquent une moindre prise de nourriture et montrant une activité antiappétante (Munakata, 1975).

En dépit de cette action négative sur la prise alimentaire, chez les orangers, le comportement des larves du troisième stade L₃ a changé ; une évolution rapide au stade prénymphe a été constatée. En effet, physiologiquement, ces dernières ne se nourrissent pas (Badawy, 1967 ; Chermiti et al., 2001). Cependant, la solution phénolique des feuilles de *Citrus clementina* s'est révélée être fortement agissante à l'égard des larves de *P. citrella*, ce qui amène à lier les fortes mortalités engendrées à sa forte teneur en composés phénoliques totaux (résultats chapitre II).

Etude expérimentale II

Etude de la qualité chimique des feuilles de Citrus

I- Introduction

Les organismes vivants exigent de la nourriture pour accomplir leurs fonctions physiologiques (Slansky et Rodriguez 1987). Ainsi, les plantes produisent une gamme de composés organiques traditionnellement classés sous les noms de métabolites primaires et secondaires. Les composés primaires comme les sucres,.. et protéines sont des composés ayant des rôles associés aux phénomènes de la photosynthèse, la respiration et la croissance et développement, ils se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie (Crozier et al., 2006). Par opposition, les métabolites secondaires comme les composés phénoliques semblent intervenir dans la défense chimique qu'entretient la plante contre les insectes phytophages qui l'agressent (Whitaker et Feeny, 1971 ; Rhoades, 1979). Ces défenses, très diversifiées, leur permettent de résister (Jalloul, 2003) et de se protéger contre l'invasion de nombreux organismes qui consomment, infectent et endommagent leurs tissus de diverses manières (Thaler et al., 2002).

La plante hôte, comme source de nourriture, joue un rôle déterminant dans la dynamique des populations avec ses composantes nutritives (protéines, acides aminés, glucides, lipides, vitamines, minéraux, eau, etc.) et ses composantes non-nutritionnelles (composés allélochimiques) (phénols, polyphénols, monoterpènes, glucosinolates, alcaloïdes, etc.) (Ohgushi 1992). C'est ainsi que la préférence de sélection et le choix du site d'oviposition par un insecte sont conditionnés par la quantité et la qualité de la nourriture disponible, dans la mesure où elle affecte la performance larvaire telle que les apports en hydrate de carbone et en azote (Ohgushi, 1992). Par ailleurs, la réduction des attaques peut être due à une diminution de la valeur nutritive ou à la présence de toxines, de substances répulsives ou d'un goût déplaisant dans les tissus de la plante (Vet et Dicke, 1992 ; Harborne, 1993). Les attaques d'insectes impliquent, habituellement, des changements dans les niveaux et/ou les activités de nombreux composés chimiques (Campbell et Grasse, 1986). En effet, les dommages induites réduisent, souvent, la qualité alimentaire des tissus et incluent l'accumulation des protéinases, des composés phénoliques et des alcaloïdes, selon la nature de l'espèce végétale (Schmeltz et al., 2003).

Chez certaines plantes, la biosynthèse des composés phénoliques constitue l'une des dispositions qu'elles développent pour se protéger en présence des insectes herbivores et d'un environnement hostile (Regnault-Roger et al., 2004 ; Häittenschwiler et Vitousek, 2000). Toutefois, la production de ces métabolites secondaires est coûteuse en énergie, et toute activité de la plante répond à une situation de dilemme entre la croissance ou la défense contre les ravageurs phytophages (Herms et Mattson, 1992).

Durant ces dernières décennies, plusieurs théories se sont succédées pour expliquer la défense chimique, par la production des métabolites secondaires des plantes contre les agressions des insectes phytophages (Berenbaum, 1995). Cependant, la différenciation de réaction de défense s'est montrée souvent au détriment des fonctions physiologiques de la plante comme la croissance, la photosynthèse, la respiration, la reproduction et le stockage des substances de réserves (Bryant et al., 1983).

La théorie de la balance carbone/nutriment introduite par Bryant et al. (1983) basée sur l'influence de l'habitat abiotique, a été considérée comme un facteur important dans la chimie défensive des plantes et la palatabilité des tissus végétaux vis-à-vis des insectes phytophages. Ils suggèrent que les ressources qui sont présents en excès à la demande physiologique de la plante sont mises à la synthèse des métabolites de défense. Cette théorie prédit que la concentration des métabolites secondaires tels que les terpènes, les phénols et d'autres composés contenant uniquement le C, H, O dans leurs structures sont corrélés positivement avec le rapport carbone/nutriment (C/N) de la plante. Contrairement, les substances secondaires à base d'azote ex : alcaloïdes, amino acides non protéines, composés cyanogéniques ...et autre renfermant de l'azote dans leurs structures ont montré une corrélation inversement proportionnelle avec le rapport C/N.

La mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella* est un insecte phytophage qui s'alimente sur un seul groupe de plantes. Quelles sont les raisons qui font que cet insecte, de génération en génération, est capable de reconnaître son espèce hôte et, en plus, de déterminer avec précision le contenu nutritif en s'éloignant des pousses les plus tendres de celles-ci, pendant une période bien définie de l'année (première poussée de sève), pour sa propre survie et celle de ses différents stade évolutifs.

La présente investigation consiste à étudier le rôle de la qualité chimique de la plante hôte pouvant affecter la répartition des dommages provoqués par les larves de *P. citrella*.

Ainsi, les objectifs de ce travail se résument à :

(i) Quantifier les contenus en eau, en azote et en carbone total, ainsi que des métabolites de défense à base de carbone (composés phénoliques totaux) et suivre leurs répartitions le long du cycle de développement des agrumes ;

(ii) Identifier les composés phénoliques ayant montré (d'après la littérature) un impact sur la physiologie des insectes ;

(iii) Vérifier l'hypothèse de Bryant et al. (1983).

II- Site d'échantillonnage

Les prélèvements de pousses des agrumes ont été effectués dans un verger agrumicole d'une propriété privée (Fig. 39), localisé dans la commune de Sidi Fellag (wilaya de Mostaganem), dans le Nord-est du chef-lieu de la wilaya ($35^{\circ} 55' N$, $0^{\circ} 08' E$, 153m d'altitude).

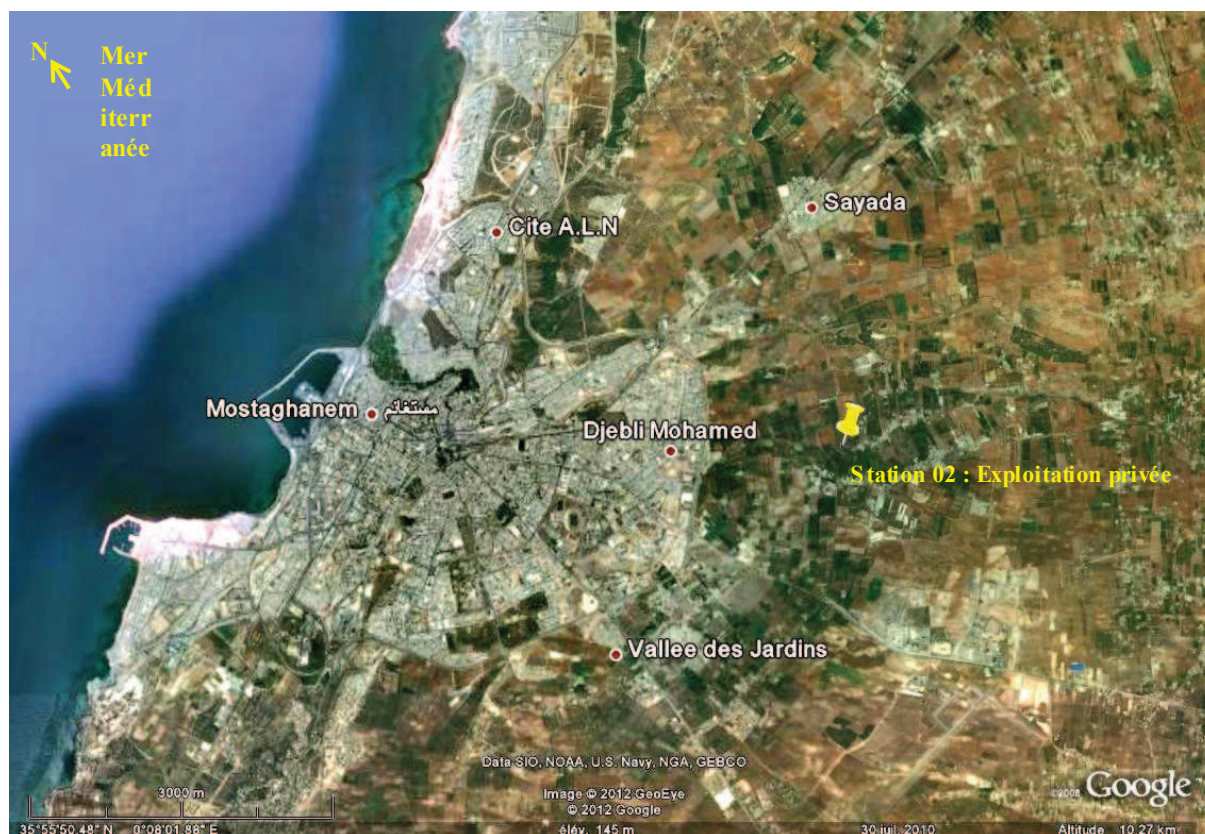


Figure 39 : Carte de situation de la station d'étude n° 02 (exploitation privée). Echelle 1/30000. Image satellitaire de Google Earth.

III- Matériel et Méthodes

III-1- Echantillonnage (Matériel)

Pendant tout le cycle phénologique des agrumes étudiés, un échantillonnage hebdomadaire a concerné spécifiquement les feuilles prélevées sur les nouvelles pousses de l'année. Pour chacune des espèces retenues (*Citrus sinensis* et *C. clementina*), 10 arbres ont été choisis au hasard.

La démarche a été faite selon un protocole bien précis (Berkani et al., 1996) : les feuilles ont été prélevées sur les arbres retenus, au hasard et selon les quatre orientations cardinales (E – O – S – N), soit 4 pousses par arbre. Pour chaque pousse trois feuilles d'âges différents (base, milieu et sommet) ont été détachées. Ceci a permis d'avoir 120 feuilles pour l'ensemble des arbres.

Tous les prélèvements ont été réalisés tôt le matin et conservés dans des sacs en plastique noir.

Au laboratoire, après avoir évalué les taux de contamination de l'insecte, les feuilles ont été délicatement débarrassées des larves et leurs excréments, rincés à l'eau distillée, soigneusement essuyés et enfin mis à l'abri de la lumière pour séchage.

III- 2- Méthodes

III-2-1- Evaluation des taux de contamination de *Phyllocnistis citrella*

Les feuilles récoltées ont été examinées sous loupe binoculaire afin de sélectionner celles ayant montrés la présence de l'insecte ; les feuilles portant une seule mine ont été considérées comme contaminées. L'évaluation du taux de contamination a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Taux de contamination} = \frac{\text{Nombre total des feuilles contaminées}}{\text{Nombre total des feuilles échantillonnées}} \times 100$$

III-2-2- Analyses chimiques

III-2-2-1- Quantification des composés phénoliques

L'évaluation des composés phénoliques se fait généralement à travers les méthodes colorimétriques et d'analyse par chromatographie liquide haute pression (HPLC).

III-2- 2-1-1- Les méthodes spectrophotométriques

Elles sont utilisées, principalement, pour leur simplicité et leur sensibilité élevée. La teneur en polyphénols totaux est déterminée par le test de Folin-Ciocalteu à des longueurs d'ondes de 760 -765nm (Singleton et Rossi, 1965 ; Kim et al., 2003 ; Djeridane et al., 2006) ou le test du Prussian Blue (Price & Butler, 1977 ; Matuschek & Svanberg, 2005).

Les composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier, de couleur orange, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide hosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques (Waterhouse, 2001), mais souffrent d'interférences avec les amino-acides de type tyrosine et d'autres composés non phénoliques tels que l'acide ascorbique (Dyke et Rooney, 2006).

III-2- 2-1-2- Extraction et préparation de l'extrait méthanolique

Pour chacune des espèces étudiées, 1 gramme de feuillage sec a été pesé puis extrait au méthanol selon le procédé de Kim et al. (2002 ; 2003) modifié : L'extraction de l'échantillon a été assistée d'un homogénéisateur Ultra thurax. La matière sèche de la plante, finement broyée (1g), a été extraite avec 10ml de méthanol pendant 20mn, à raison de 20000 tours/mn. Après filtration sous vide à l'aide d'un filtre en verre fritté n° 04, le résidu a été ensuite rincé avec 5ml de méthanol et extrait à nouveau, dans les mêmes conditions, avec 10ml de méthanol. Les filtrats obtenus ont été ensuite mélangés et centrifugés puis ajustés à 20ml. Tous les tubes à essais ont été gardés à 0° C avant les analyses.

III-2- 2-1-3- Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu selon la méthode de Miliauskas et al. (2004). Un volume de 1ml de l'échantillon à doser (l'extrait méthanolique des feuilles ou substance de référence) a été mélangé avec un volume de 5ml de Folin Ciocalteu (2M dilué 10 fois dans l'eau distillée) et un volume de 4ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 75g/l. Après une incubation de 60mn à la température ambiante, l'absorbance du mélange a été lue avec un blanc fait à partir d'eau distillée à une longueur d'onde de 765nm, à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 6715 UV-Visible.

La teneur des composés phénoliques totaux, exprimée en équivalent acide gallique (GAE)/g de plante sèche, a été déterminée en se basant sur une courbe d'étalon obtenue à partir d'une série de dilution, allant de 10 à 100 $\mu\text{g/ml}$.

III-2- 2-1-4- Analyse par HPLC

Les composés phénoliques présents dans les extraits ont été analysés par un système de chromatographie haute performance liquide en phase inverse couplé à un détecteur à barrette de diode (HPLC-DAD, High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector, Agilent 1100), en utilisant une colonne RP C18. Les composés ont été séparés selon le gradient d'élution A : eau/acétonitrile (solvant A) et le Méthanol (solvant B), avec un débit d'élution de 1 ml/mn décrit par Buer et al. (2007) et la détection a été réalisée à l'aide d'un détecteur DAD (190-900nm).

Les chromatogrammes ont été analysés par le logiciel Agilent Technologies ChemStation Family Software Products, Germany. La concentration des composés phénoliques identifiés a été calculée en corrélant les aires des pics mesurés avec les courbes d'étalonnage obtenues avec les substances de référence à savoir la rutine et la quercétine (fournis par Sigma-Aldrich). Alors que leur identification a été faite en comparant les spectres UV des pics par rapport à ceux obtenus sur les standards.

Les échantillons sélectionnés concernent ceux prélevés sur les pousses de printemps (14 avril), d'été (18 septembre) et d'automne (30 octobre).

III-2-2-2- Carbone total

De nombreuses possibilités de dosage existent, mais les principales techniques font appel à l'oxydation de la matière organique en CO₂ telle que la combustion à haute température (Sauvant, 1988). Cette technique s'est montrée efficace dans l'analyse des composés difficiles à oxyder telles que les protéines, les substances particulières et les échantillons riches en chlorures (Hedges, 1993), alors que l'oxydation par voie chimique a été préconisée pour les applications nécessitant une grande sensibilité.

Pour des raisons d'indisponibilité d'un appareil conçu pour le dosage précis de l'azote et du carbone total (analyseur C/N/S), la quantification de ce dernier a nécessité l'utilisation d'un four réglé à 550 °C pendant 6 heures, durant laquelle la matière sèche va se transformer en cendre blanche et le carbone sous forme CO₂ diffusé dans l'air.

Pour déterminer la teneur en carbone disponible, il est important de connaître le taux de la matière organique qui est déterminée par la différence entre la matière sèche et la matière minérale obtenue après oxydation des échantillons des feuilles (**MO%=MS% - MM%**).

Selon Sauvant (1988), la teneur du carbone total par rapport à la matière organique (M.O) est donnée par la loi suivante :

$$\%C = \%M.O \times 12 / 44$$

12 = Masse atomique du carbone.

44 = Masse moléculaire du CO₂.

III-2-2-2-1- Matière sèche

Lorsque l'échantillon est placé dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures, toute l'eau (H₂O) s'évapore et restent les résidus appelés « matière sèche » ; cette dernière est constituée de la matière inorganique ou minérale (Calcium, phosphore, magnésium, Sodium...etc.) et de la matière organique telle que le carbone et l'azote (A.O.A.C, 1996).

La matière sèche a été déterminée à partir de 5g de matière fraîche introduite dans un creuset taré, puis séchée dans une étuve à 105°C jusqu'au poids constant. Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset a été pesé une seconde fois. Le taux de la matière sèche par rapport à la matière fraîche s'effectue de la manière suivante :

$$\%MS = [(Tare + MS) - Tare] \times 100 / MF$$

III-2-2-2- Matière minérale

La matière minérale a été déterminée après avoir introduit, dans un four à 550°C durant 6 heures, le creuset contenant la matière sèche. Le pourcentage de la matière minérale par rapport à la matière fraîche est donné par la relation :

$$\%MIM = [(Tare + MIM) - Tare] \times 100 / MF$$

III-2-2-3- Azote total

Le dosage de l'azote total a été basé sur la méthode de type micro-Kjeldahl utilisant un catalyseur au Sélénium, selon la démarche suivante : la minéralisation, première étape du dosage, consiste à dénaturer les protéines, casser les liaisons peptidiques, libérer les acides aminés et ensuite transformer l'azote organique en azote minéral. Tous cela a été fait à chaud en présence de 0.2g de matière sèche et 2g de catalyseur ($CuSO_4$ = Sulfate de cuivre), K_2SO_4 (Sulfate de Potassium) additionnés a 20ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) pur, l'humidité doit être comprise entre 0 à 10%, puis laisser en contact une demie heure. Le mélange a été porté à 200 °C dans un bloc de digestion, après 30mn le mélange vire du noir vers le vert clair.

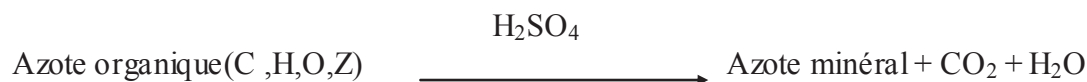
L'ébullition de la matière végétale en présence de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré va entraîner une oxydation de la matière organique et une transformation de l'azote protéique en sulfate d'ammonium, selon la réaction suivante :



L'acide sulfurique sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous forme de sulfate d'ammonium, par action de la base avec l'acide. Après refroidissement de la solution, le mélange a été ajusté à 100ml.

La deuxième étape nommée « distillation » consiste à mélanger 20ml de l'échantillon et 25ml de soude ($NaOH$ 30%) dans un ballon. L'addition de $NaOH$ va entraîner une libération de l'ammoniac sous forme de sel $(NH_4)_2SO_4$.

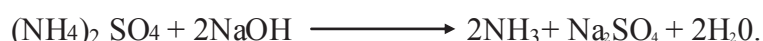
L'ammoniac est ensuite entraîné par la vapeur d'eau après avoir fixé le ballon à l'appareil. Le distillat est accueilli dans un bécher de 50ml contenant 20ml d'acide borique; le volume recueilli doit être compris entre 30 et 40ml. L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels de « borates d'ammonium ». Ce dosage consiste donc à minéraliser les matières azotées par l'acide sulfurique concentré chaud (en présence d'un catalyseur au sélénium) en sulfate d'ammonium, avec le déroulement des réactions suivantes :



Où



Lorsqu'on ajoute du NaOH, l'ion NH_4^+ (ammonium) est converti en NH_3 (gaz ammoniac); étant volatile, le NH_3 est récupéré après distillation dans un milieu acide (H_3BO_3) pour reprendre la forme d'ion NH_4^+ .



La dernière étape consiste à faire « la titration » de l'ammoniac, qui est capturé par l'acide borique formant ainsi un complexe d'ammonium borate selon la réaction suivante :



Ammoniac + Ac. borique \longrightarrow Complexe d'ammonium borate + acide borique

La titration se fait à l'aide d'une burette fixée à un support d'agitation, L'acide sulfurique dilué N/20 s'écoule goutte à goutte dans le bécher contenant le distillat, jusqu'au virage de la couleur du vert au gris sale.



Complexe d'ammonium borate + acide sulfurique \longrightarrow sulfate d'ammonium + Ac. borique

Afin d'éliminer l'azote provenant des réactifs, un blanc a été réalisé dans les mêmes conditions sans l'ajout d'échantillon.

A travers l'ammoniac présent dans la solution, on peut calculer la quantité d'azote initialement contenue dans l'échantillon.

La teneur d'azote est donnée par la loi suivante :

$$\text{N}\% = v \times 7.10^{-4} \cdot \frac{V}{V_0} \times \frac{100}{P}$$

- v = volume H_2SO_4 (N/20).
- 7.10^{-4} = volume H_2SO_4 (N/20) (pour 1 ml de H_2SO_4).
- V = volume de L'échantillon (=100ml).
- V_0 = volume de la prise d'essai (=20ml).
- P = poids de l'échantillon.

III-2-2-4- Analyses statistiques

Pour évaluer l'effet de chacun des paramètres quantifiés, les données ont été mises sous une forme appropriée pour l'analyse de l'ANOVA mono-factorielle. La comparaison des moyennes deux à deux a été faite grâce à un test de comparaison des moyennes multiples (Student-Neuman-Keuls). $P < 0,05$ montre un effet significatif du facteur étudié. Les données sont représentées en moyennes \pm écarts types.

Les tests de corrélations entre variables ont été effectués à l'aide du logiciel "Statistics calculators, version 3 Béta" (Soper, 2013). La corrélation mesure la relation entre deux variables ou plus. Le coefficient de corrélation utilisé est celui de Pearson (r), également appelé coefficient de corrélation linéaire.

IV- Résultats

Les résultats obtenus sur l'activité de l'insecte, la teneur en eau, le taux de carbone et d'azote et la teneur des composés phénoliques totaux ainsi que le rapport C/N des feuilles d'agrumes sont récapitulés dans les tableaux 13, 14, 15 et 16 (annexe 5).

IV-1- Evolution de l'activité de *P. citrella*

Dans les conditions Méditerranéennes, le cycle végétatif des agrumes se caractérise par l'apparition de jeunes ramifications appelées communément « poussées de sève ». Elles sont habituellement au nombre de trois à quatre, coïncidant avec les débuts du printemps, de l'été et de l'automne.

IV-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Pour les deux espèces citricoles étudiées, l'échantillonnage a débuté à partir du mois de mars. En effet, le premier prélèvement a été réalisé le 06 mars. Pendant tout le suivi effectué, aucune activité de *P. citrella* n'a été relevée au cours de cette phase de développement de la plante (Fig. 40).

IV-1-2- Pousses rebelles

Après la fin de la première poussée de sève et avant le début de la deuxième, les agrumes se manifestent par l'émission de jeunes feuilles tendres. Ces pousses constituent en fait une masse végétative appelée pousse rebelle.

L'activité de l'insecte a été notée, sur les deux espèces, à partir du 12 juin. Le premier relevé sur orangers a enregistré un taux de contamination de l'ordre de 2%, par contre aucune infestation n'a été observée sur les feuilles de clémentiniers (Fig. 40). Les contaminations ont montré une augmentation progressive dans le temps, pour atteindre des maxima de 51 et 49% de feuilles visitées respectivement chez les orangers et les clémentiniers à la fin de cette strate végétative (17 juillet).

IV-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Le phytophage a montré une activité intense au début de cette poussée. En effet, les minima de contaminations observées le 24 juillet se chiffrent à 86 et 77% respectivement chez les orangers et les clémentiniers. A partir du 07 août, l'activité du ravageur s'est manifestée par des niveaux de contamination très élevés fluctuant entre 94 et 100% sur orangers et 92 et 100% sur clémentiniers ; valeurs relativement stables (Fig. 40). Les températures optimums et la présence de jeunes feuilles tendres ont été à l'origine de cette situation.

IV-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

La masse végétative développée par la poussée d'automne est nettement plus importante que la seconde poussée de sève. Les jeunes pousses sont apparues à la fin du mois de septembre et cela pour les deux espèces citricoles (le 25).

Les données des infestations (Fig. 40), notées sur cette phase de développement des plantes étudiées, ont dévoilées deux niveaux bien distincts ; le premier, celui étalé du début (25 septembre) au 23 octobre pour les orangers et les clémentiniers, avec des contaminations alarmantes a enregistré respectivement des taux allant de 83 à 100% et 95 à 100%. Alors que le second, observé à partir du 30 octobre, a été caractérisée par une baisse sensible des infestations et marquant des taux de 30 (orangers) et 35% (clémentiniers) relevés le 04 décembre.

D'après les résultats consignés dans la figure 41 et les tableaux 15 et 16 (annexe 5), il est clair que les différentes poussées de sève : pousses de printemps, rebelles, d'été et pousses d'automne réagissent différemment vis-à-vis de la mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella*. En effet, la répartition saisonnière du ravageur note une évolution croissante des taux de contamination avec 0 – 17,67±67 – 95,89±4,24 – 67, 55±28,77 et 0 - 21±16,46 – 94±7,28 – 77,55±25,90 respectivement chez les orangers et les clémentiniers. Ces données tendent d'une valeur nulle observée pendant la première poussée à un maximum enregistré pendant la deuxième poussée de sève, suivie de la troisième.

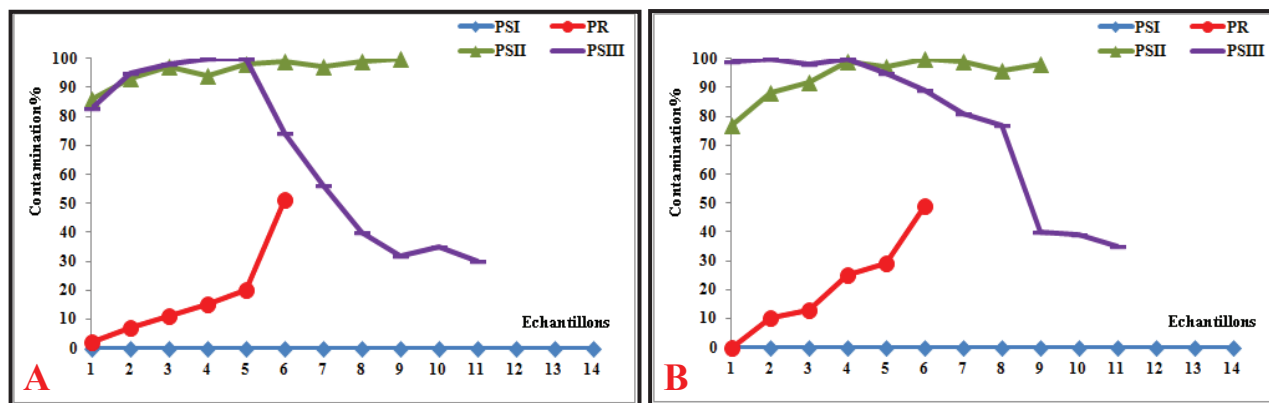


Figure 40 : Evolution chronologique des taux de contamination de *Phyllocnistis citrella* (A = orangers ; B = clémentiniers).

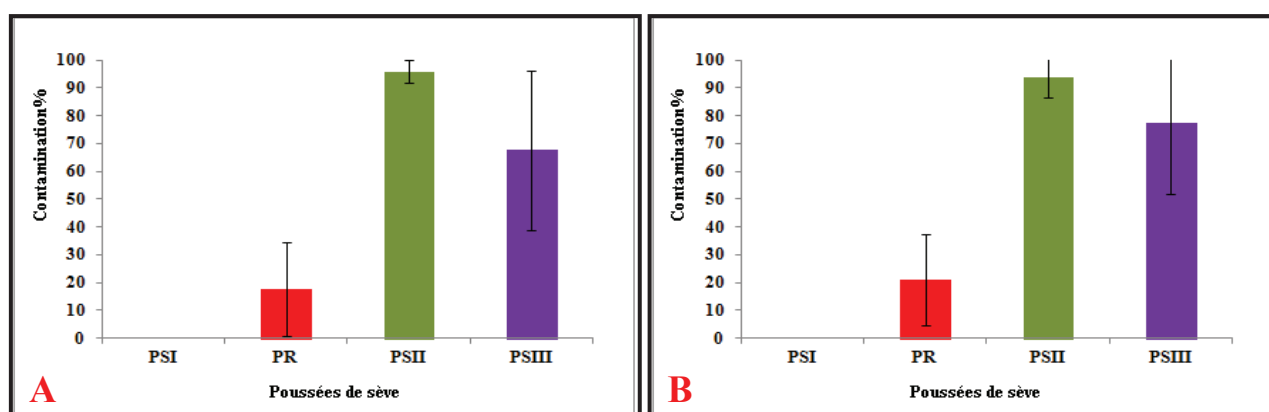


Figure 41 : Moyennes des taux de contamination de *Phyllocnistis citrella*, par poussées de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).

IV-2- Teneur en eau

Conjointement aux travaux d'analyses de la qualité chimique, un suivi de la teneur en eau des feuilles des agrumes a permis de mettre en évidence la variabilité de ce paramètre le long de leur cycle phénologique. La figure 42 montre l'évolution quantitative de ce paramètre au cours des différentes poussées de sève.

IV-2-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

La variation de la teneur en eau, chez les deux espèces étudiées, change d'une manière similaire. En effet, après le repos végétatif, chez les orangers (Fig. 42A), les pousses nouvellement formées se sont montrées relativement riche en eau. Cependant cette disponibilité a été diminuée pour atteindre une valeur minimale de 72,3% le 13 mars. Au delà de cette date, les teneurs ont augmenté au fur et à mesure ; un maximum de l'ordre de 77,867% a été enregistré le 24 avril. A partir de cette date, un schéma inverse s'est présenté ; l'accumulation en eau a subit une régression régulière. C'est ainsi que les teneurs sont passées de 76,246% le 01 mai à un minimum de 74,127% en fin de cette phase. Parallèlement, la figure 42B des clémentiniers montre une évolution comparable à celle des orangers. Deux phases ont été décelées : la première, qui s'étale du 06 mars au 24 avril, correspond à une accumulation progressive et oscillent entre 72,9 et 77,18%. Alors que la seconde, correspond à une réduction des teneurs dont les valeurs sont comprises entre 76,047 et 71,113%.

IV-2-2- Pousses rebelles

Cette phase végétative s'est étalée du 12 juin au 17 juillet, soit 6 semaines. La figure 42A montre, chez les orangers, une disponibilité hydrique maximale au début et à la fin de cette phase de développement du végétale avec des teneurs en eau observées variant entre 75,933 et 76,127% (écart insignifiant). Le minimum note uniquement 73,193% le 03 juin. Cependant, les feuilles de clémentiniers (Fig. 42B) ont emmagasinés des quantités relativement faibles par rapport à celles des orangers, néanmoins les observations enregistrées les 10 et 17 juin ne diffèrent guère de celles observées chez la première espèce dans la même période (75,687 et 75,863%).

IV-2-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Que se soit pour les orangers ou les clémentiniers, le début de la deuxième poussée de sève note des valeurs relativement faibles. Les résultats consignés dans la figure 42 montrent des minima de 71,08% (24 juillet) et 70,77% (31 juillet) respectivement pour les orangers et les clémentiniers. Au-delà de ces dates, la turgescence des feuilles n'a cessé de croître linéairement. En effet les teneurs les plus importantes ont été enregistrées en fin de la phase végétative (orangers = 75,84% - clémentiniers = 76%).

IV-2-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

La disponibilité en eau dans les feuilles, dans cet intervalle de l'année, est représentée par une période de très faibles teneurs en eau, caractéristique de l'achèvement du cycle de développement des agrumes.

Le graphique des orangers (Fig. 42A) présente des changements décroissants allant d'une observation maximale enregistrée au début avec 74,513% à un minimum en fin de la troisième poussée (66,62%). De même pour les clémentiniers (Fig. 42B), les teneurs en eau subissent le même sort que précédemment. C'est ainsi que les fortes valeurs sont enregistrées du 25 septembre au 06 novembre avec des valeurs oscillant entre 75,253 et 71,44%. Cependant, une baisse très sensible a été notée du 13 novembre au 04 décembre (68,113 – 68,99 – 68,5 et 68,235%).

Des variations de pourcentages d'humidité des feuilles ont été observées (Fig. 43). En effet, une inégalité significative a été révélée entre les différentes poussées de sève. Les feuilles des orangers ($F_3 = 672,059$; $P = 0$) prélevées pendant les saisons estivale et printanière semblent être les moins humides avec respectivement 73.916 ± 0.155 et 71,506%. Alors que celles de printemps (74,634%) et des pousses rebelles (75,048%) notent des valeurs supérieures.

Les résultats enregistrés sur les clémentiniers confirment ceux obtenus précédemment ($F_3 = 1175,828$; $P = 0$). L'eau présente sur les feuilles de la première poussée de sève (74,632%) et des pousses rebelles (74,047%) a été relativement plus abondante par rapport à la deuxième (73,655%) et la troisième (73,393%) poussée de sève. Toutefois, ces changements saisonniers semblent être physiologiquement favorables.

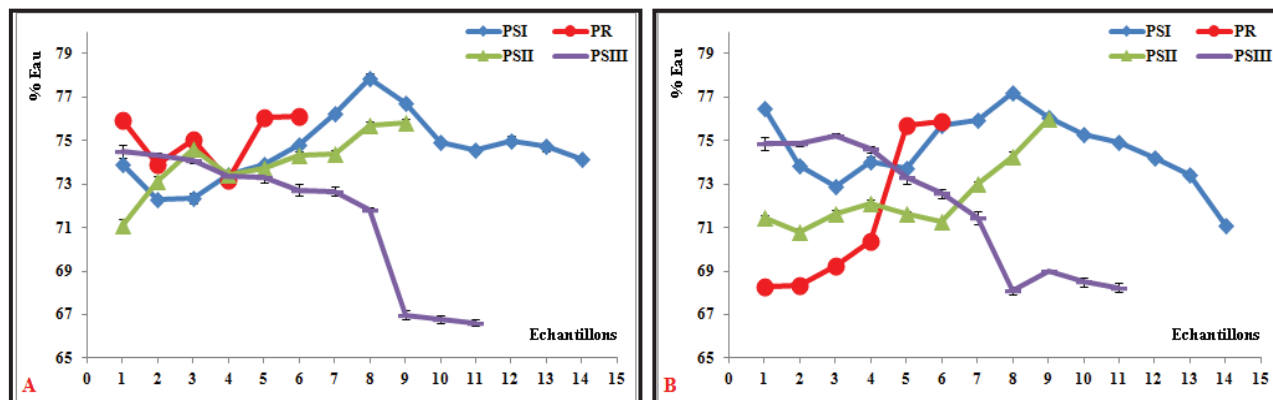


Figure 42 : Evolution chronologique de la teneur en eau (A = orangers ; B = clémentiniers).

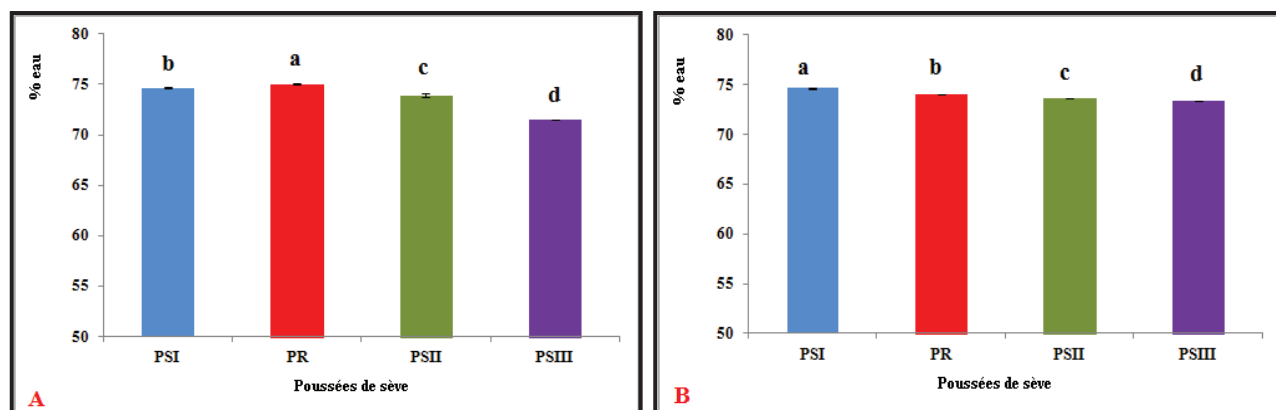


Figure 43 : Moyennes des teneurs en eau, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-keuls, $P \leq 0.05$).

IV-3- Carbone total

Pour une meilleure présentation des données, le carbone total initialement estimé en fonction de la matière sèche obtenue a été recalculé par rapport à la matière fraîche, celle-ci est indiquée par un poids constant (5 gr). Selon Awmack et Leather (2002), la teneur en eau décroît progressivement avec l'âge du feuillage.

IV-3-1- Evolution chronologique

IV-3-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Chez les deux espèces d'agrumes, de fortes accumulations de carbone ont été observées sur le feuillage prélevé au début de la saison avec 7,096 – 7,094% MF enregistrés le 13 et le 20 mars chez les orangers et 6,943 – 6,722% MF notés respectivement le 20 mars et le 04 avril sur les pousses de clémentiniers. Cette disponibilité décline progressivement pour atteindre des minima de l'ordre de 5,675 (orangers) et 5,889% (clémentiniers) enregistrés le 24 avril. A partir de là, un redressement de la courbe a été observé. Les maxima sont, également, enregistrés au terme de cette poussée avec 6,669 et 7,37% MF respectivement sur orangers et clémentiniers. Cette strate végétative semble être caractérisée par deux périodes, dans la première le carbone a été nécessairement utilisé pour des processus physiologiques propre à la plante, alors que la seconde semble montrer des accumulations de réserves (Fig. 44).

IV-3-1-2- Pousses rebelles

Exceptionnellement pour cette phase (Fig. 44), les prélèvements d'échantillons réalisés sur les pousses rebelles ont été rapidement stoppés après l'apparition du feuillage d'été.

Malgré les oscillations enregistrées au début de cette phase chez les orangers, une diminution du taux de carbone pendant la période de croissance des pousses rebelles a été conclue. En effet, les faibles taux ont été enregistrés en fin des observations (le 17 juin) avec 6,114 et 5,756% de matière fraîche, respectivement chez les orangers et les clémentiniers : l'amplitude notée entre les relevés est plus importante chez les orangers (2,491 vs 0,759% de matière fraîche).

IV-3-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Bien que l'évolution du carbone sur les pousses d'été semble ne pas montrer une variation remarquable entre les relevés, les taux enregistrés tendent plutôt à la baisse. C'est ainsi que les valeurs enregistrées le 24 sur les feuilles des orangers et le 31 juillet chez les clémentiniers constituent le maximum de carbone accumulé lors de cette phase végétative, alors que le minimum a été observé le 18 septembre avec 6,19 et 6,143% MF, respectivement pour les orangers et les clémentiniers (Fig. 44).

Tout en ignorant la valeur notée le 18 septembre sur les pousses de clémentiniers, la différence entre les maxima et les minima chez les deux espèces présente des amplitudes de moindre importance et se chiffre à 1,102 et 0,519% MF.

IV-3-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

Contrairement aux poussées précédentes, le taux de carbone s'est réparti différemment. C'est ainsi que son évolution tend crescendo pendant toute la saison automnale.

Les courbes des deux espèces (Fig. 44) sont caractérisées par deux paliers sensiblement distincts. Le premier noté du 25 septembre au 13 novembre, avec des valeurs visiblement proches comprises entre 6,552 - 7,288 et 6,439 - 7,152 respectivement chez les orangers et les clémentiniers. Alors que le second, montre des relevés extrêmes de l'ordre de 8,738 (orangers) et 8,429% (clémentiniers) gramme de matière fraîche enregistrés le 04 décembre.

Il est clair que la fluctuation du taux de carbone exprimée par l'importance de l'amplitude entre les deux taux extrêmes montre la fin du cycle phénologique du végétal.

Globalement, il est apparent que le carbone produit par les feuilles est fonction de la saison et l'âge des feuilles.

IV-3-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève

Les données consignées dans les tableaux 6 et 7 montrent, globalement, que les taux de carbone ont été les plus importants sur les pousses d'été et d'automne, suivis des pousses de printemps. Similairement, les teneurs maximales et minimales respectent également cet ordre, alors que l'amplitude entre les deux extrêmes est plus importante pour la PS₁ et la PS₃, mais de moindre importance pour la PS₂.

Chez les orangers (Tab. 6), la teneur moyenne la plus élevée a été enregistrée sur la troisième poussée de sève, suivie de la seconde ($F_3 = 966,96$ et $P < 0,05$) avec respectivement $7,369 \pm 0,005$ et $6,671 \pm 0,046\%$ MF, devançant ainsi la poussée printanière ($6,49 \pm 0,015$). Parallèlement, la première poussée de sève des clémentiniers ($6,493 \pm 0,008\%$ MF) s'est montrée également la moins riche en carbone ($F_3 = 61,36$ et $P < 0,05$) comparativement aux strates végétatives suivantes (Tab. 7). Les taux de carbone accumulés sur la deuxième et la troisième poussée de sève se chiffrent alors à $7,224 \pm 0,129$ et $7,226 \pm 0,078\%$ gramme de matière végétale fraîche ; valeurs statistiquement égales.

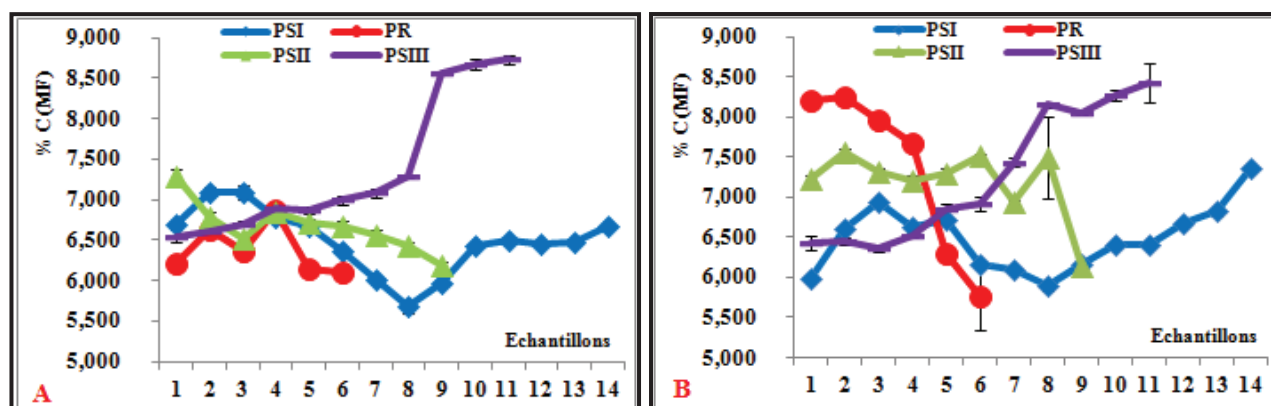


Figure 44 : Evolution chronologique du taux de carbone (A = orangers ; B = clémentiniers).

Tableau 6 : Comparaison de la teneur en carbone entre les poussées de sève (orangers).

Carbone (% MF)	Maxima	Minima	Amplitudes	^a Teneurs moyennes
Poussées de sève				
PSI	7,096	5,675	1,421	6,490±0,011c
PR	6,864	6,114	0,750	6,691±0,010d
PSII	7,292	6,190	1,102	6,671±0,046b
PSIII	8,738	6,552	2,186	7,369±0,005a

^a représente les moyennes de trois répétitions (n=3).

a–b–c–d : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Tableau 7 : Comparaison de la teneur en carbone entre les poussées de sève (clémentiniers).

Carbone (% MF)	Maxima	Minima	Amplitudes	^a Teneurs moyennes
Poussées de sève				
PSI	7,370	5,889	1,481	6,493±0,008b
PR	8,247	5,756	2,491	7,361±0,087a
PSII	7,558	6,939	0,519	7,224±0,129a
PSIII	8,429	6,357	2,072	7,226±0,078a

IV-3-3- Relation entre le taux de carbone et le taux de contamination

Les données consignées dans les figures 45 et 46 montrent clairement qu'il y a une nette concordance entre l'évolution des contaminations et la teneur en carbone. En effet, l'accroissement des teneurs en carbone a pour conséquences la propagation des dommages de *P. citrella* sur les feuilles de *Citrus*, démontrant nettement la relation existante entre les deux paramètres.

IV-3-3-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Aucune évolution de l'activité des adultes de *P. citrella* n'a été détectée pendant la poussée printanière des deux espèces d'agrumes. En parallèle, la production de carbone semble diminuée comparativement à celle enregistrée au cours de la deuxième et troisième poussée de sève. De ce fait, aucune corrélation ne peut être envisagée entre les deux paramètres étudiés.

IV-3-3-2- Pousses rebelles

Par ailleurs, sur le jeune feuillage des pousses rebelles des orangers, les taux de contamination et les teneurs en carbone total ont suivi des tendances linéaires, mais d'orientation inverse (Fig. 45A). Semblablement, la relation paraît plus discernable chez les clémentiniers, l'augmentation des attaques du phytophage semble diminuer le taux de carbone produit. En effet, les fortes valeurs du début ont été enregistrées lorsque les contaminations ont été à leur minimum, alors que la faible production en carbone observée à la fin de cette phase a été accompagnée par des taux de contamination relativement importants (Fig. 45B).

Les données de ces facteurs montrent une corrélation négative avec ($r = - 0,409 ; P = 0,21$) et ($r = - 0,921 ; P = 0,003$), respectivement pour les orangers et les clémentiniers.

IV-3-3-3- Deuxième poussée de sève (Pousses d'été)

Comparativement aux strates précédentes, les résultats enregistrés (Fig. 45) pour cette phase végétative montrent d'une manière plus précise la parfaite synchronisation entre les deux facteurs (Contamination et carbone total accumulé).

Bien que les variations et les fluctuations de contamination observées le long de la deuxième poussée de sève demeurent minimales, une nette relation a été notée. C'est ainsi qu'au début, pour un taux de carbone maximum enregistré le 24 juin chez les orangers (7,292%), le ravageur a répondu par une activité relativement moins importante (86%). Les données montrent que la régression du carbone accumulé a engendré un accroissement des feuilles visitées par les adultes de *P. citrella*. De ce fait, le minimum de carbone noté le 18 septembre (6,19%) avait pour conséquence une infestation de la totalité des feuilles (100%). De l'autre côté, chez les clémentiniers, les teneurs en carbone ont été plus élevées avec des variations légères que celles enregistrées sur la première espèce. A l'exception de la date du 04 et 18 septembre, toutes les valeurs ont dépassés largement le

seuil de 7,2% MF, respectivement les niveaux des contaminations ont fluctué entre 77 et 100%. Alors que pour un minimum de disponibilité enregistré le 18 septembre, 98% de contamination a été enregistrée.

De même pour cette phase végétative, une corrélation négative et significative, a été notée entre le taux de carbone et les contaminations de *P. citrella* ($r = - 0,905$; $P = 0,0003$ pour les orangers) et ($r = - 0,761$; $P = 0,008$ pour les clémentiniers).

IV-3-3-4- Troisième poussée de sève (Pousses d'automne)

En automne, chez les orangers, deux grandeurs d'accumulation de carbone semblent caractériser cette poussée de sève (Fig. 45A). La première étape s'étale entre le 25 septembre et le 13 novembre avec une augmentation timide et continue des teneurs en carbone et un accroissement des contaminations, alors que la seconde confirme l'étroite relation entre les deux paramètres ; un développement du niveau des teneurs en carbone a entraîné une chute des contaminations. Le même schéma se présente également chez les clémentiniers (Fig. 45B), la relation entre les taux de carbone et les infestations est similaire à celle observée sur les orangers, caractérisée en particulier par une baisse de l'activité des adultes de l'insecte lorsque les teneurs en carbone sont élevées.

Comme précédemment, une corrélation négative et significative a été déterminée ($r = - 0,863$; $P = 0,0003$) et ($r = - 0,913$; $P = 0,00004$) respectivement chez les orangers et les clémentiniers.

IV-3-4- Relation entre les teneurs moyennes de carbone total et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève)

Chez les orangers (Fig. 46A), les premières contaminations ont été notées sur les pousses rebelles avec un taux moyen de 17,68%, correspondant à une teneur moyenne en carbone de l'ordre de 6,39% MF. La teneur la plus élevée en carbone a été enregistrée sur la seconde poussée de sève (6,67% MF), entraînant un taux de contamination moyen relativement élevé (95,89%). En comparaison, une élévation du niveau de carbone sur la troisième poussée de sève (7,369% MF) a eu pour conséquence une baisse du niveau des infestations (67,55%). Cependant, sur la poussée printanière, un niveau minimum d'accumulation de carbone (6,49% MF) a été enregistré en absence de toutes infestations.

Par ailleurs, sur les feuilles de clémentiniers (Fig. 46B), le même schéma se présente. C'est ainsi que, de forts dommages ($PS_2 = 94\%$ et $PS_3 = 77,55\%$) ont été notés lorsque les taux de carbone sont à leurs maximums. En effet, la deuxième et la troisième poussée de sève semble accumulés ($PS_2 = 7,224\%$ MF et $PS_3 = 7,226\%$ MF) une quantité nécessairement suffisante aux

processus physiologiques de la plante et à la nourriture de l'insecte. Ces informations mettent en évidence une corrélation positive avec $r = 0,536$; $P = 0,232$ chez les orangers et $r = 0,597$; $P = 0,202$ sur les poussées de clémentiniers.

IV-3-5- Comparaison entre espèces

Par espèce étudiée, la synthèse de carbone a été relativement plus importante sur les feuilles des clémentiniers (7,076% MF) que celles des orangers (6,731% MF). Les données indiquent que se sont les feuilles des clémentiniers qui ont été les plus réceptives avec un taux d'infestation moyen de (48,136%) par rapport aux orangers (45,276%) (Tab. 8). Celles-ci confirment probablement la relation proportionnelle existante entre l'activité des adultes de *P. citrella* et le taux de carbone

La synchronisation entre la présence de carbone et l'activité des adultes du phytophage paraît évidente. Cette corrélation pourrait justifier les exigences des insectes en composés carbonés, qui peuvent être utilisés pour leurs alimentations, reproductions et enfin, pour leurs nuisibilités (Bryant et al., 1983).

Tableau 8 : Teneurs moyennes en carbone et taux de contamination moyens annuels par espèce végétale hôte.

Moyennes%/ Espèces	Carbone	Contaminations
Orangers (<i>C. sinensis</i>)	6,731±0,408	45,276
Clémentiniers (<i>C. clementina</i>)	7,076±0,365	48,136

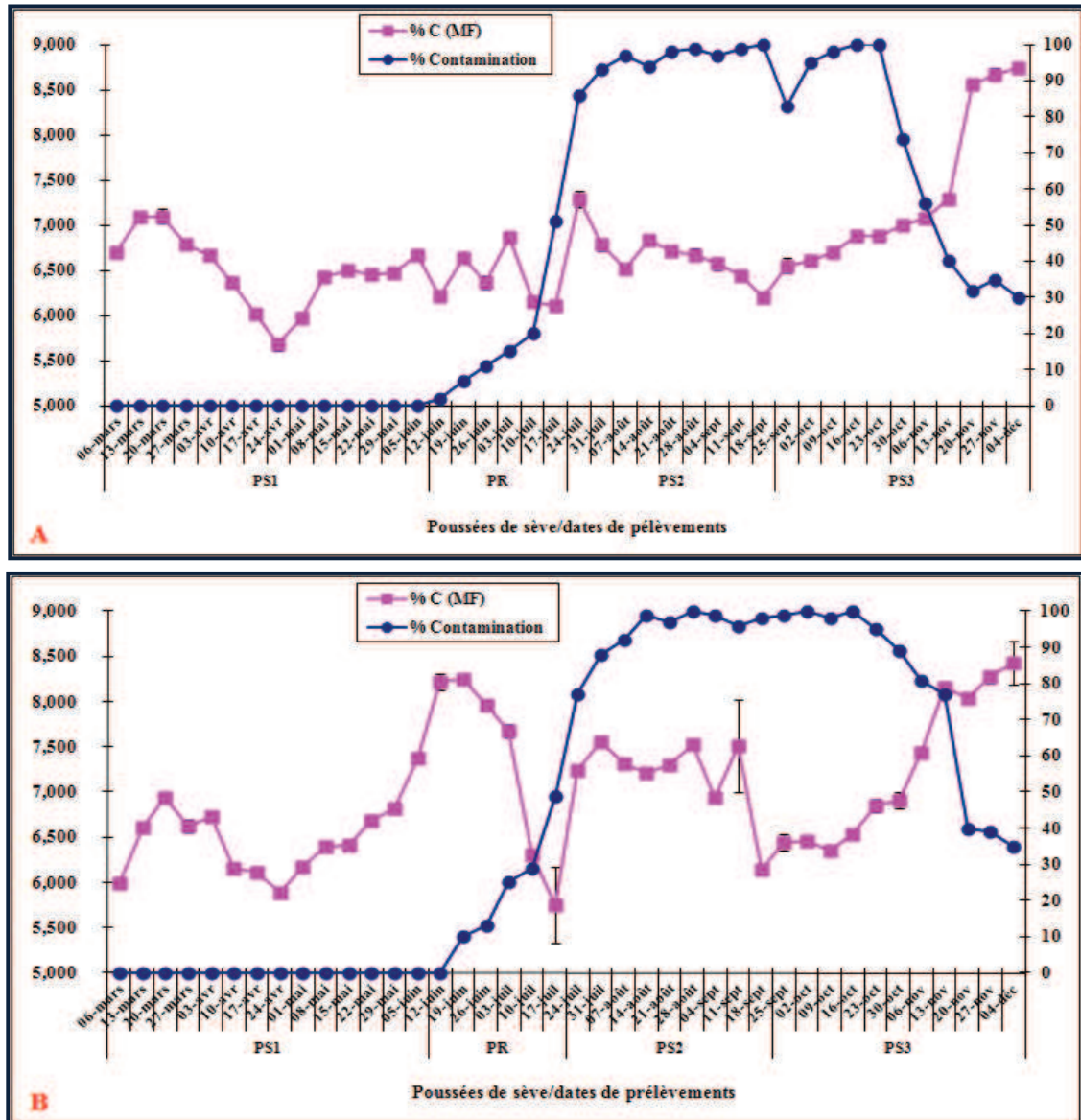


Figure 45 : Relation entre les taux de carbone et les taux de contamination (A = oranges ; B = clémentiniers).

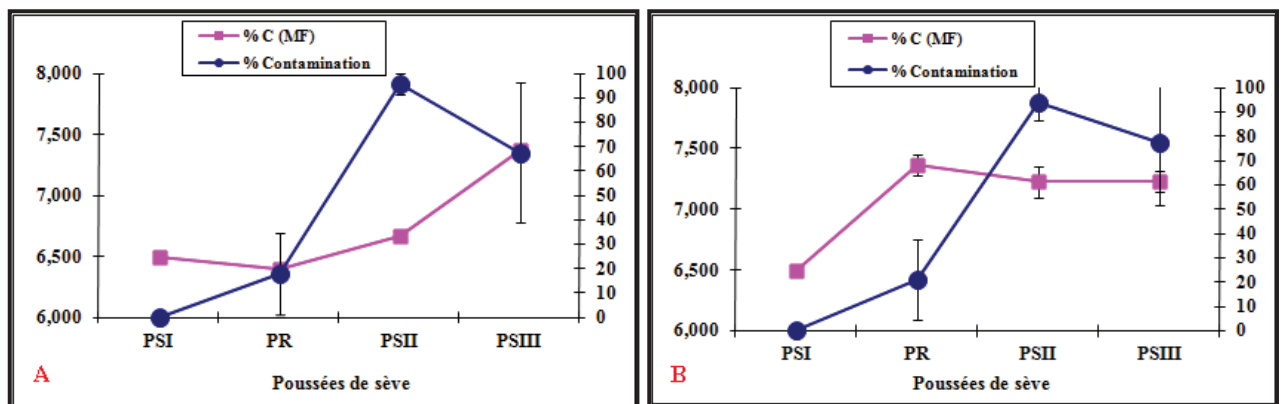


Figure 46 : Relation entre les taux de carbone moyens et les taux de contamination moyens, par poussée de sève (A = oranges ; B = clémentiniers).

IV- 4- Azote total

IV-4-1- Evolution chronologique

IV-4-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Le taux d'azote le plus important (Fig. 47) a été enregistré tout au début de cette strate végétatif avec 5,143 et 5,51% respectivement pour les orangers et les clémentiniers, pour ensuite baisser progressivement atteignant un minimum de 1,75 et 1,98% à la fin de cette poussée de sève. L'amplitude entre les deux valeurs est de l'ordre de 3,393% (orangers) et 3,53%. Les fortes biodisponibilités en azote observées au début sont les résultats de l'accumulation des réserves de la plante pendant la troisième poussée de sève, alors que la baisse est la conséquence des besoins importants du végétal en printemps (floraison, nouaison et croissance).

IV-4-1-2- Pousses rebelles

Comme pour la poussée précédente, chez les orangers (Fig. 47A), le niveau d'azote le plus élevé a été observé tout au début avec un maximum de 3,16% noté le 12 juin. Les données suivantes affichent une baisse régulière, atteignant un minimum de 2,18% (10 Juillet), soit une amplitude de 0,98% ; valeur moins importante que précédemment et cela en raison de la durée de la poussée (seulement 6 semaines).

Les données relevées sur les clémentiniers (Fig. 47B) reproduisent les mêmes séquences que celles observées sur la première espèce végétale. La forte teneur (maximum) en azote a été également enregistrée au début avec 2,92 %, suivie d'une baisse dont le minimum a été atteint le 10 juin (1,64%) avec un écart de 1,55%.

IV-4-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Par rapport aux poussées précédentes, les teneurs en azote observées au début dans les feuilles des orangers restent relativement faibles (Fig. 47A). De même, les valeurs enregistrées restent très proches ; ceci est vérifié par les taux maximal et minimal avec respectivement 2,99% et 1,86% soit une amplitude de 1,13%. Ceci est certainement dû à la période estivale courte et les besoins minimes en azote pendant cette période.

Le même schéma se reproduit sur les pousses d'été chez les clémentiniers (Fig. 47B), la forte accumulation d'azote a été également enregistrée au début avec un maximum de 2,74% le 24 juillet et un minimum de 1,89% enregistré le 18 septembre. La différence entre les valeurs extrêmes est seulement de 0,85%. Cet écart confirme celui obtenu sur les orangers.

IV-4-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

Contrairement aux strates précédentes, une accumulation d'azote a été observée à la fin de cette poussée. C'est ainsi qu'un maximum a été enregistré le 27 novembre avec 4,16% et le minimum le 25 septembre avec 2,66%. L'amplitude entre les extrêmes est de l'ordre de 1,67%. Il est important de signaler que les teneurs d'azote enregistrées sur les sept premiers échantillons (du 25 septembre au 30 octobre) ont varié très peu, de même que ces informations ressemblent à ceux obtenues au niveau de la deuxième poussée de sève (Fig. 47A).

Chez les clémentiniers (Fig. 47B), l'évolution de la teneur de l'azote total est similaire à celle observée sur les orangers. En effet, c'est à la fin de la strate qu'un maximum de l'ordre de 4,66% a été enregistré le 04 décembre (fin de la saison), alors que c'est le 9 octobre que le minimum a été noté avec 2,25% d'azote. L'amplitude entre les deux données est de l'ordre de 2,41%.

IV-4-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève

Chez les deux espèces d'agrumes étudiées, la même évolution de l'azote se présente. Les taux d'azote les plus élevés, d'une manière générale, ont été notés sur les pousses de printemps et d'automne. La figure 47 est caractéristique, du fait qu'elle met en évidence l'importance de l'azote stocké en fin du cycle végétatif (fin troisième poussée de sève) et son utilisation par la plante au début de l'année suivante (première poussée de sève).

Les valeurs consignées dans les tableaux 9 et 10, chez les deux espèces d'agrumes, montrent que les taux d'azote les plus élevés sont observés sur la PS₁ suivis de la PS₃. L'amplitude la plus faible est notée sur la PS₂ alors que la plus importante se remarque sur la PS₁.

Ces constatations ont été comparées par une étude statistique des données. En effet, l'analyse de la variance a mis en évidence l'effet de la saison sur la distribution de l'azote sur les feuilles des agrumes. Chez les orangers, la comparaison (test de Newman-keuls) entre les différentes poussées de sève ($F_3 = 21,912$; $P < 0,05$) a révélé une différence significative, se sont la première et la troisième poussée de sève qui ont présenté des teneurs élevées en azote avec $3,135 \pm 0,046$ et $3,021 \pm 0,14\%$ de matière sèche respectivement, suivie de la seconde poussée ($2,588 \pm 0,071\%$ MS) et les pousses rebelles ($2,605 \pm 0,13\%$ MS).

Les données relevées sur les clémentiniers confirment celles obtenues précédemment. Ce sont également les pousses printanières et automnales qui renferment des teneurs élevées ($F_3 = 292,977$; $P < 0,05$) avec respectivement $3,315 \pm 0,063$ et $3,163 \pm 0,063\%$. Cependant, la teneur moyenne enregistrée sur la deuxième poussée de sève a été identifiée la moins riche ($2,202 \pm 0,063\%$

MS). Les pousses rebelles ont montré un taux de $2,418 \pm 0,125\%$ (MS) ; valeur significativement élevée par rapport à la précédente ($F_3 = 292,977$; $P < 0,05$).

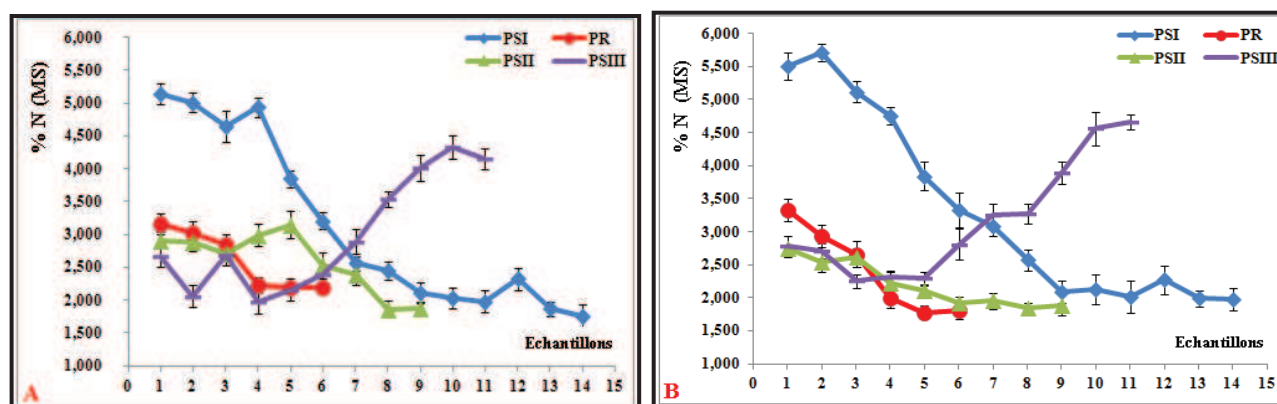


Figure 47 : Evolution chronologique du taux d'azote (A = orangers ; B = clémentiniers).

Tableau 9 : Comparaison de la teneur de l'azote total entre poussées de sève (orangers).

% Azote	Maxima	Minima	Amplitude	Teneur moyenne
Poussées de sève				
PSI	$5,143 \pm 0,152$	$1,75 \pm 0,179$	$3,393 \pm 0,236$	$3,135 \mathbf{a} \pm 0,046$
PR	$3,16 \pm 0,168$	$2,18 \pm 0,076$	$0,98 \pm 0,148$	$2,605 \mathbf{b} \pm 0,13$
PSII	$2,91 \pm 0,122$	$1,86 \pm 0,134$	$1,05 \pm 0,02$	$2,588 \mathbf{b} \pm 0,071$
PSIII	$4,33 \pm 0,175$	$1,98 \pm 0,18$	$2,35 \pm 0,345$	$3,021 \mathbf{a} \pm 0,14$

a–b : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Tableau 10 : Comparaison de la teneur de l'azote total entre poussées de sève (clémentiniers).

% Azote	Maxima	Minima	Amplitudes	Teneurs moyennes
Poussées de sève				
PSI	$5,717 \pm 0,133$	$1,98 \pm 0,164$	$3,737 \pm 0,031$	$3,315 \mathbf{a} \pm 0,063$
PR	$3,33 \pm 0,171$	$1,78 \pm 0,1$	$1,55 \pm 0,117$	$2,418 \mathbf{c} \pm 0,125$
PSII	$2,74 \pm 0,013$	$1,84 \pm 0,078$	$0,9 \pm 0,062$	$2,202 \mathbf{d} \pm 0,063$
PSIII	$4,66 \pm 0,112$	$2,25 \pm 0,101$	$1,587 \pm 1,246$	$3,163 \mathbf{b} \pm 0,063$

a–b–c–d : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

IV-4-3- Relation entre le taux d'azote total et le taux de contamination

IV-4-3-1- Première poussée de sève

La première poussée de sève n'étant pas contaminée par *Phyllocnistis citrella*, il ne peut y avoir de relation.

IV-4-3-2- Pousses rebelles

En se référant aux figures 48, il est clair que la visite des adultes de la mineuse des feuilles d'agrumes se sont faites au moment où les taux d'azote ont baissé, ceci laisse penser à une relation inversement proportionnelle entre les deux paramètres. En effet, la corrélation de Pearson entre les contaminations de l'insecte et les moyennes des taux d'azote total a été forte et négative chez les orangers ($r = - 0,720$; $P = 0,0533$) et les clémentiniers ($r = - 0,901$; $P = 0,0071$).

IV-4-3-3- Deuxième poussée de sève

Quantitativement, l'azote disponible est de moindre importance et ne montre pas une grande variabilité, alors que le niveau de contamination est très élevé (Fig. 48). Ceci suppose une activité importante des adultes, qui semble être attirés par les feuilles dont la teneur en azote est relativement faible. Par contre, il est possible que le niveau de ces mêmes teneurs, soient favorables au développement du phytophage ce qui explique les infestations importantes pendant cette période.

Comme précédemment, une corrélation négative a été déterminée ($r = - 0,555$; $P = 0,0604$) et ($r = - 0,833$; $P = 0,00265$) respectivement chez les orangers et les clémentiniers.

IV-4-3-4- Troisième poussée de sève

Précisément, le même cas de figure que celui observé sur les pousses d'été, faibles teneurs en azote et fortes contaminations avec des taux élevés.

Les courbes des figures 48A et 48B semblent indiquées, comme pour les pousses rebelles et les pousses d'été, une relation inversement proportionnelle entre le niveau des infestations et les teneurs en azote. Les deux paramètres ont montré une corrélation linéaire, négative et de très forte significativité, que se soit pour les orangers ($r = - 0,935$; $P = 0,00001$) ou les clémentiniers ($r = - 0,955$; $P = 0,000005$).

IV-4-4- Relation entre les teneurs moyennes d'azote total et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève)

Dans cette présente analyse, Les teneurs moyennes en azote semblent être en relation étroite avec les taux de contamination de *P. citrella*. Les contaminations enregistrées sur les pousses d'été des orangers et des clémentiniers sont les plus importantes, alors que l'accumulation d'azote total la

plus élevée a été décelée pendant la poussée printanière ; soit approximativement 17,5 (orangers) et 33,6% de plus pour les clémentiniers (Fig. 49). En outre, les données indiquent que la proportion d'azote sur les feuilles de la troisième poussée de sève est moins importante à celle de la première poussée, mais relativement supérieure à la deuxième. Par contre, son niveau des infestations est situé entre ces deux dernières.

D'une manière générale, aussi bien pour les clémentiniers que pour les orangers, l'absence de contamination sur les pousses de printemps coïncide avec une teneur moyenne en azote relativement élevée, alors que pour les strates végétatives estivale et automnale, l'inverse est observé. Ceci semble marquer une relation inversement proportionnelle entre les deux facteurs (teneur en azote et contamination), avec une corrélation négative: orangers $r = - 0,448$; $P = 0,276$ et clémentiniers $r = - 0,424$; $P = 0,228$.

IV-4-5- Comparaison entre espèces

Par espèce (Tab. 11), une différence insignifiante dans les teneurs en azote a été observée sur les feuilles d'orangers et de clémentiniers. C'est ainsi que les taux enregistrés sont de l'ordre de $2,754 \pm 0,35$ et $2,775 \pm 0,507\%$. Parallèlement, une très légère différence a été notée pour les contaminations des feuilles (45,275 contre 48,136%).

Tableau 11 : Teneurs moyennes d'azote et taux de contamination moyens annuels par espèce végétale.

Moyennes / Espèces	Azote%	Contaminations%
Orangers (<i>C. sinensis</i>)	2,754±0,35	45,276
Clémentiniers (<i>C. clementina</i>)	2,775±0,507	48,136

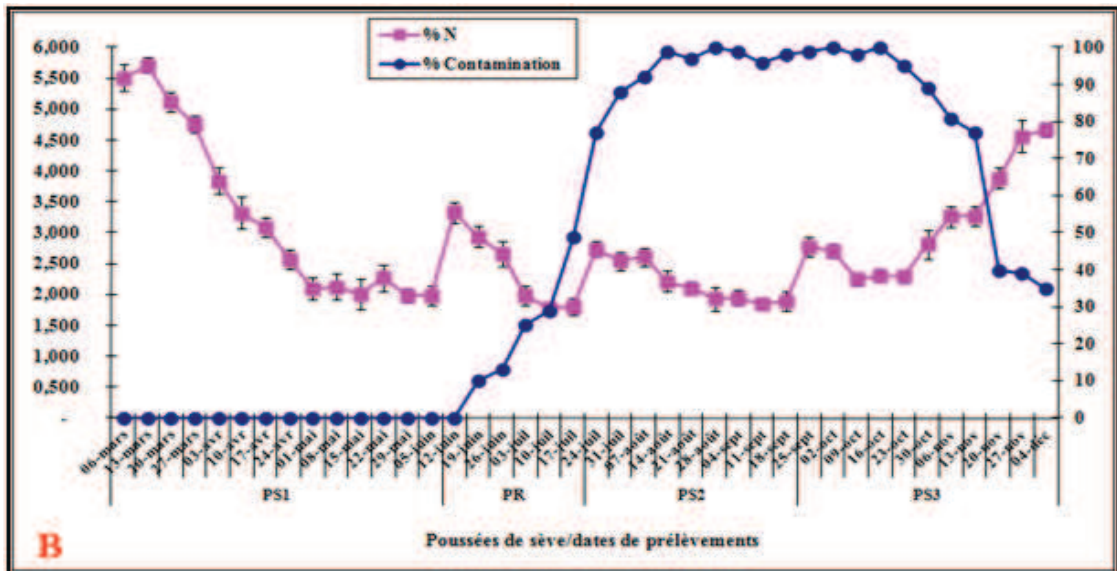
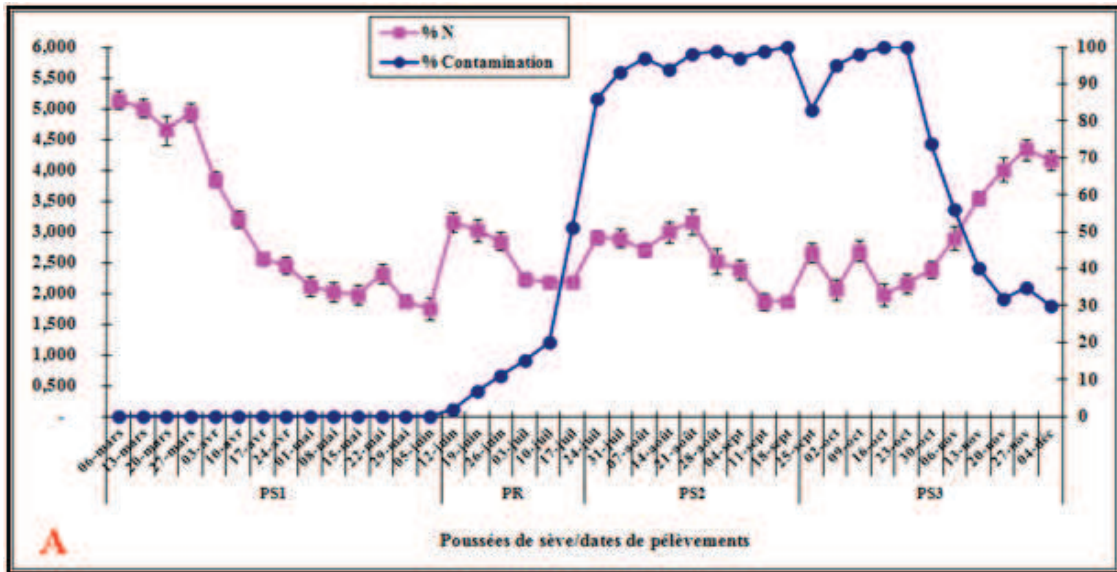


Figure 48 : Relation entre les taux d'azote et les taux de contamination (A = orangers ; B = clémentiniers).

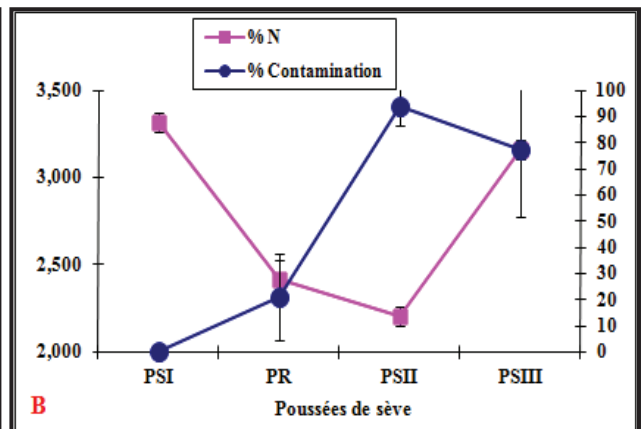
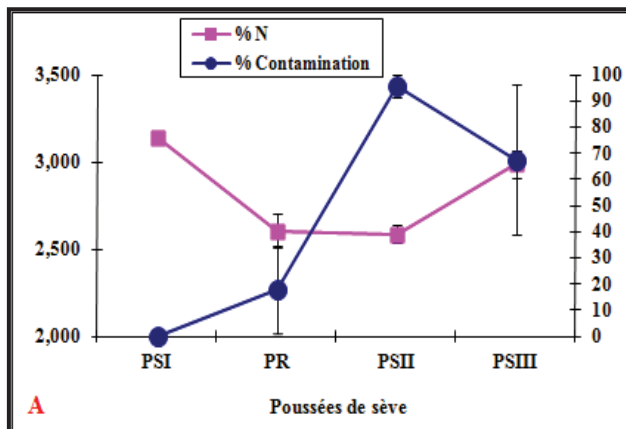


Figure 49 : Relation entre les taux d'azote moyens et les taux de contamination moyens, par poussée de sève (A = orangers, B = clémentiniers).

IV-5- Balance C/N

IV-5-1- Evolution chronologique

D'une manière générale, le rapport C/N a évolué pratiquement de la même manière pour les orangers et les clémentiniers, mais pour des valeurs différentes. Contrairement aux pousses d'automne, l'évolution des courbes (Fig. 50A et B) montre clairement qu'à la fin de la première poussée, les pousses rebelles et la deuxième poussée de sève, les rapports C/N sont les plus importants ce qui semble indiquer que les teneurs en azote sont en baisses, du fait des besoins importants du végétal pendant ces périodes.

IV-5-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Les équilibres C/N, sur cette strate végétative, ont été caractérisés par des niveaux strictement distincts. Chez les orangers (Fig. 50A), le premier enregistré du 06 au 27 mars a été marqué par des rapports C/N faibles avec une évolution minimale. Alors que le second s'étalant du 03 au 24 avril a été caractérisé par des valeurs relativement élevées et des changements plus notifiant. Un troisième Palier, noté du 01 mai au 05 juin, correspondant à une stabilisation des équilibres, et semble indiquer la fin de l'évolution des pousses de printemps. Ces données montrent deux extrêmes ; les deux rapports constituent le minimum (4,987) et le maximum (14,87) avec une amplitude de l'ordre de 9,883, qui pourrait justifier la dissolution de l'un des constituants dans le rapport nutritionnel.

L'évolution des rapports C/N sur les feuilles de clémentiniers (50B) présente beaucoup de similitude avec ceux observés sur les orangers. C'est ainsi que l'on note le rapport maximum de 12,957 à la fin de cette poussée de sève (05 juin) et un minimum de 4,417 enregistré le 13 mars, soit une amplitude de 8,53.

IV-5-1-2- Pousses rebelles

Les rapports issus de la combinaison carbone/azote présentent les mêmes caractéristiques que pour les pousses de printemps (Fig. 50). Des faibles valeurs au début avec 8,192 et 7,794 (minimum) notées le 12 juin respectivement pour les orangers et les clémentiniers et des valeurs plus conséquentes vers la fin (10 juillet) avec 11,798 (orangers) et 14,609 (clémentiniers), soit des écarts de 3,606 et 6,815.

IV-5-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

L'évolution des rapports C/N semble analogue à celle de la première poussée de sève, mais avec des valeurs plus haussées. Les rapports estimés chez les orangers (Fig. 50A) paraissent évoluer en trois phases. En effet, hormis la date du 07 août, des valeurs minimales très proches variant entre 8,631 et 8,677 enregistrées au début, caractérisent la première phase de cette saison. Celle ci a été

suivie d'une seconde montrant un accroissement continu, mais dont les rapports C/N semblent évoluer d'une manière plus étendue que ceux de la première phase. Alors que la troisième a été caractérisée par des rapports stables, indiquant l'achèvement de la poussée estivale (11 et 18 septembre). L'amplitude entre les deux extrêmes (5,688) est nettement plus maigre que celle observée sur les pousses de printemps.

Pour les clémentiniers (Fig. 50B), les rapports C/N évoluent de la même manière que celle observée chez la première espèce végétale. Aussi, le minimum a été noté au début (9,273) et un maximum (14,3) à la fin de la saison avec une amplitude de l'ordre de 5,027.

Il est indispensable de signaler que durant toute la période, les rapports enregistrés sont importants à ceux notés sur la première poussée de sève.

IV-5-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

La combinaison C/N montre des séquences différentes de celles observées sur les pousses précédentes. C'est ainsi que la tendance des courbes est caractérisée par une baisse progressive.

Spécifiquement, les maxima enregistrés au démarrage foliaire de cette poussée automnale ont été chiffrés à raison de 9,631 (09 octobre) 9,233 (25 septembre) respectivement sur orangers et clémentiniers (Fig. 50). Alors que les minima avec 6,024 et 5,522 ont été révélés respectivement les 27 novembre (orangers) et 04 décembre (clémentiniers). De ce fait, l'amplitude observée entre les valeurs extrêmes est de l'ordre de 3,607 et 3,711.

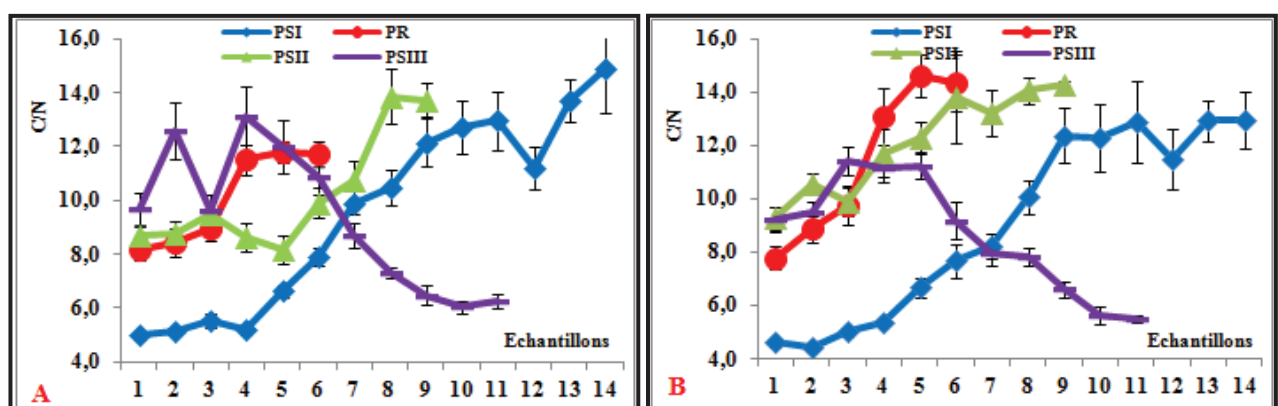


Figure 50 : Evolution chronologique de l'équilibre C/N (A = orangers ; B = clémentiniers).

IV-5-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève

L'équilibre nutritionnel, déterminé par le rapport C/N, varie en fonction de la disponibilité et la concentration de chaque composant. En effet, dans le cas du rapport faible, la valeur de l'azote obtenu l'emporte sur le carbone produit, alors que dans le cas du rapport élevé, l'azote est dissout dans la nourriture.

Hormis les échantillons prélevés en dates du 30 novembre au 05 décembre sur les pousses d'automne, et pour le même âge des feuilles, les rapports C/N relativement les plus faibles ont été observés sur la première poussée de sève (Fig. 50), conséquence de la forte teneur en azote en raison des besoins importants de la plante pendant cette période. Les rapports les plus bas observés sur les pousses d'automne, expliqués par l'accumulation de l'azote, constitue bien évidemment un moyen de mise en réserve.

D'une manière générale, les données des rapports C/N classées par période souligne l'effet de la saison sur la variation de la balance C/N.

D'après les résultats de l'analyse de la variance monofactoriel au seuil de 0,05, les valeurs de F observés sont nettement supérieures aux valeurs de F théoriques. En effet, Chez les orangers ($F_3 = 21,025$; $P = 0,0005$), une différence significative a été observée entre les différentes moyennes (Fig. 51A), justifiant ainsi l'action des conditions environnementaux. La deuxième poussée de sève ($9,89 \pm 0,24$) et les pousses rebelles ($9,85 \pm 0,45$) semblent montrer un équilibre C/N supérieur à celui observé sur les pousses de printemps ($8,17 \pm 0,11$) et d'automne ($8,66 \pm 0,29$).

Les mêmes remarques des faits ont été conclues sur clémentiniers ($F_3 = 95,55$; $P = 0,00001$), c'est la poussée estivale qui a montré l'équilibre le plus élevé (Fig. 51B) avec $11,70 \pm 0,31$ suivie des pousses rebelles ($10,74 \pm 0,50$), et enfin de la troisième ($8,132 \pm 0,15$) et la première poussée de sève ($7,72 \pm 0,13$).

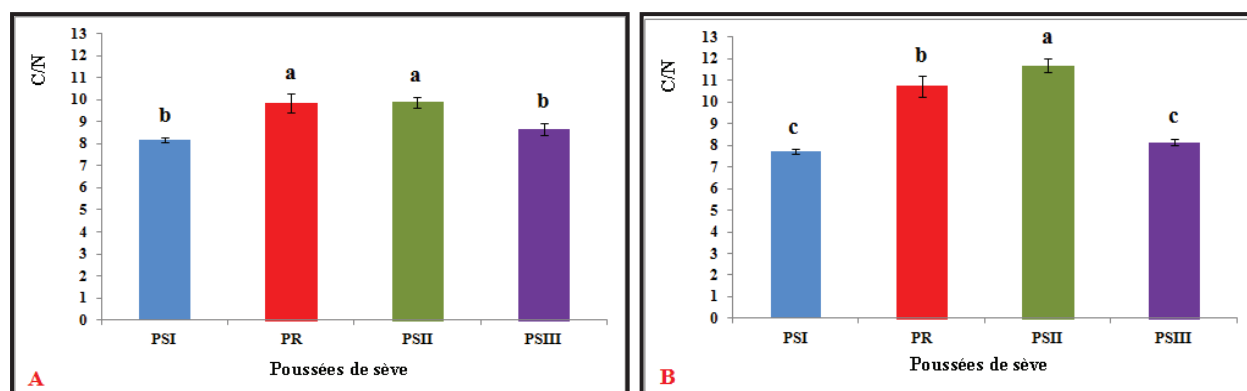


Figure 51 : Moyennes de l'équilibre C/N, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-Keuls. $P < 0.05$).

IV-5-3- Relation entre le rapport C/N et les taux des contaminations

IV-5-3-1- Première poussée de sève

Aussi bien pour les orangers que pour les clémentiniers (Fig. 52), aucune relation n'est possible sur les premières poussées de sève entre les rapports C/N et les contaminations du fait de l'absence de ces dernières.

IV-5-3-2- Pousses rebelles

Les données consignées dans les figures 52A (orangers) et 52B (clémentiniers) montrent clairement la nette concordance entre l'évolution des contaminations et la balance carbone/azote. Il est possible que les adultes soient attirés précisément par des proportions de carbone et d'azote dans les feuilles et leurs combinaisons sous forme de rapport. En effet, une corrélation positive, chez les orangers ($r = 0,721$; $P = 0,0529$) et les clémentiniers ($r = 0,905$; $P = 0,0065$), a été déterminée entre les deux paramètres.

IV-5-3-3-Deuxième poussée de sève

À l'exception de certaines oscillations constatées dans l'évolution des deux courbes représentées dans les figures 52A et 52B, l'accroissement des rapports C/N avait pour conséquences la propagation des dommages de *P. citrella*, démontrant nettement la corrélation positive existante entre les deux paramètres sur les feuilles des orangers ($r = 0,562$; $P = 0,0576$) et des clémentiniers ($r = 0,794$; $P = 0,0053$)

IV-5-3-4- Troisième poussée de sève

Spécifiquement sur cette strate végétative, la chute de contamination a été guidée par une réduction des équilibres C/N, justifiant une remarquable proportionnalité. C'est ainsi qu'une corrélation positive, d'une intensité plus forte que celles notées précédemment, a été obtenue sur le feuillage des orangers ($r = 0,927$; $P = 0,00002$) et des clémentiniers ($r = 0,911$; $P = 0,00005$).

IV-5-4- Relation entre les rapports moyens C/N et les taux moyens des contaminations (entre poussées de sève)

D'une manière générale, Les données des figures 53A et 53B indiquent que les rapports C/N les plus élevés ont été observés sur la seconde poussée de sève, alors que les plus bas ont été notés sur la première. Parallèlement, les taux de contaminations les plus importants ont été enregistrés sur les pousses d'été (PS₂) des deux espèces de *Citrus*. La réduction du taux moyens des contaminations observées sur le feuillage d'automne a été marquée par un rabais de la balance moyenne C/N. Les moyennes des taux de contamination ont été corrélées positivement avec les

moyennes des rapports C/N, mesurée par poussée de sève avec $r = 0,451$; $P = 0,275$ et $r = 0,43$; $P = 0,285$ respectivement pour les orangers.

IV-5-5- Comparaison entre espèces

Les rapports moyens de C/N, par espèces, ne montrent pas de différence entre espèce. En effet la différence entre les deux espèces de *Citrus* est insignifiante. Il en est de même pour les moyennes des contaminations qui ne sont pas très éloignées les unes des autres, moins de 3% (Tab. 12).

Tableau 12 : Equilibres moyens C/N et taux de contamination moyens annuels par espèce végétale.

Moyennes / Espèces	C/N	Contaminations%
Orangers (<i>C. sinensis</i>)	9,142±0,801	45,276
Clémentiniers (<i>C. clementina</i>)	9,573±1,803	48,136

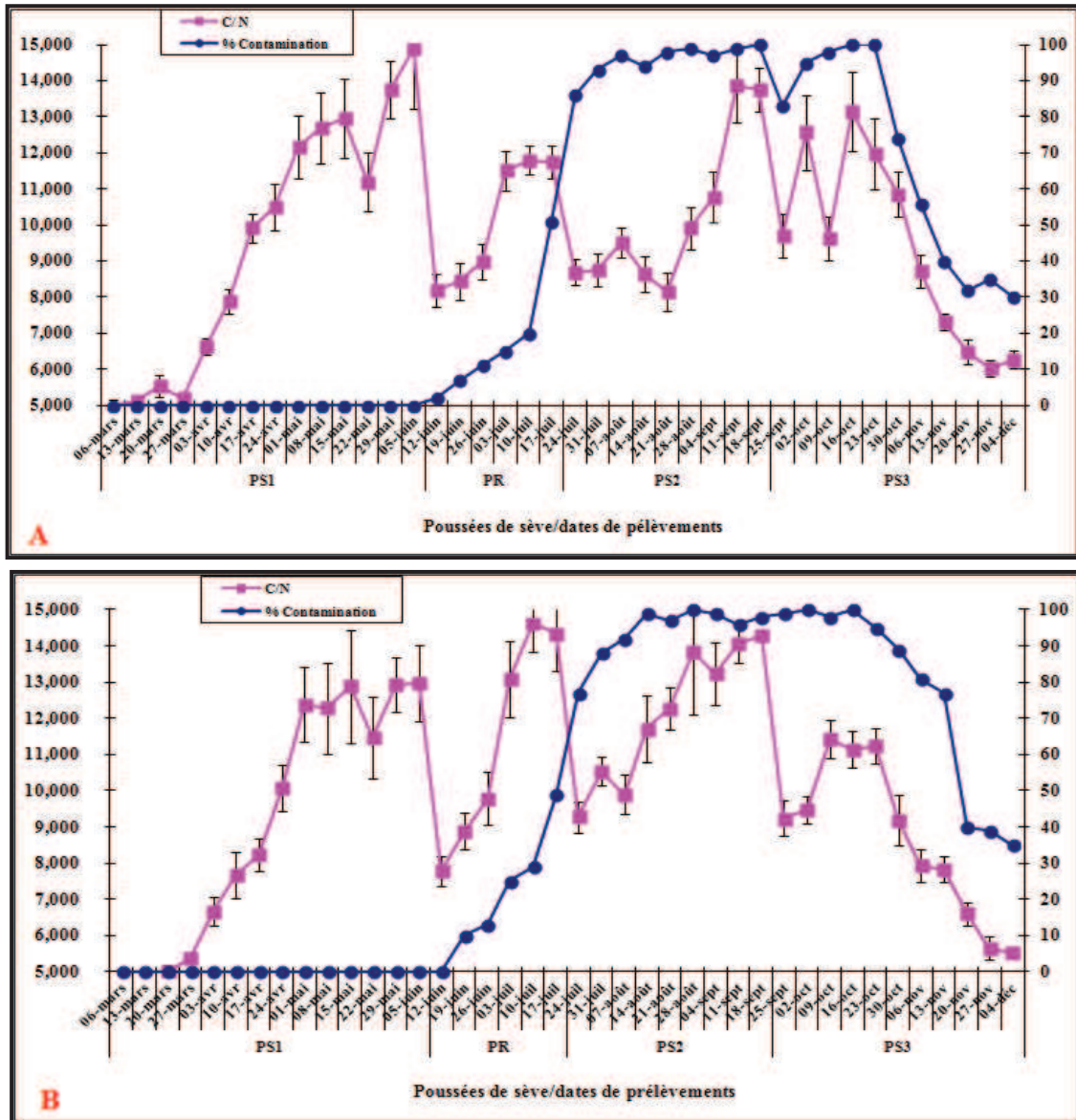


Figure 52 : Relation entre les équilibres C/N et les taux de contamination (A = oranges, B = clémentiniers).

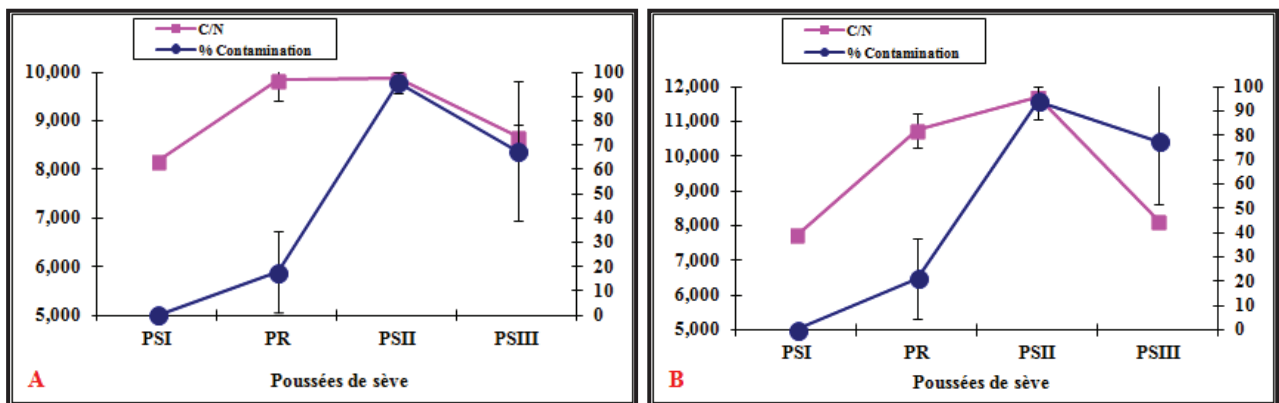


Figure 53 : Relation entre les équilibres moyens C/N et les taux de contamination, par poussée de sève (A = oranges, B = clémentiniers).

IV-6- Composés phénoliques totaux

Les données des absorbances optiques obtenues sur chacune des espèces ont été converties en doses à partir d'une droite d'étalonnage tracée avec l'acide gallique ($y=0,0109x - 0,1063$ et $R^2 = 99,68\%$) (Fig. 54).

Les teneurs en composés phénoliques totaux, exprimés en milligramme Equivalent Acide Gallique (EAG) par gramme de matière sèche, ont été calculées en se basant sur les données des concentrations déterminées préalablement.

IV-6-1- Evolution chronologique

IV-6-1-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Les données consignées dans la figures 55 révèlent deux pics, suivis chacun par une réduction progressive de la teneur en composés phénoliques. En effet, chez les orangers (Fig. 55A), le premier (06 mars) enregistré au début de cette strate végétative note 22,10mg/g MS, à partir duquel une chute remarquable des teneurs a été observée. Ces dernières oscillent entre 14,46 et un minimum de 10,73mg/g MS (04 avril). Le second, avec 21,05mg/g MS enregistré le 11 avril, constitue avec les teneurs relevées dans la période du 17 au 22 avril un pallier montrant des valeurs égales ($F_{13} = 41,50$; $P = 0$). Alors que le minimum de disponibilité en composés phénoliques totaux a été enregistrée à la fin de cette poussée avec seulement 11,31 (29 mai) et 11,94mg/g MS (05 juin) ; différence insignifiante ($F_{13} = 41,50$; $P = 0$).

Pour les clémentiniers (Fig. 55B), l'évaluation quantitative des polyphénols totaux ont montré une évolution similaire à celle observée sur la première espèce végétale. C'est ainsi qu'un premier niveau est observé du 06 au 27 mars avec des valeurs montrant une teneur de 39,42mg/g MS au début et un minimum de l'ordre de 12,10mg/g MS à la fin ($F_{13} = 365,81$; $P = 0$). Un second est représenté par des accumulations maximum au début (du 11 au 24 avril) avec des valeurs comprises entre 40,70 et 43,19mg/g MS, tandis que la phase du 01 mai au 05 juin correspond à une réduction progressive des teneurs en composés phénoliques totaux ($F_{13} = 365,81$; $P = 0$).

IV-6-1-2- Pousses rebelles

Comme la poussée précédente, les maxima des teneurs en composés phénoliques totaux (Fig. 55) ont été observés seulement sur les premières jeunes feuilles apparues le 12 juin, soit 12,73 et 24,82mg/g MS respectivement pour les orangers et les clémentiniers. Après une réduction intense remarquée le 19 juin (orangers = 8,81 et clémentiniers = 16,71 mg/g MS), un redressement dans la production a été suivi d'une stabilisation des accumulations en polyphénols du 26 juin au 03 juillet (orangers $F_5 = 62,245$; $P = 0$ et clémentiniers : $F_5 = 9,105$; $P = 0,001$).

IV-6-1-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Particulièrement sur la poussée estivale, les teneurs en composés phénoliques les moins importantes ont été enregistrées au début. Selon la figure 55A, la teneur de 14,14mg/g MS observée le 24 juillet sur le feuillage des orangers a subi une augmentation progressive pour se stabiliser du 14 août au 09 septembre ($\approx 20\text{mg/g MS}$), toutefois une réduction en composés phénoliques totaux a été enregistrée à la fin de la poussée avec 17,56mg/g MS ($F_8 = 76,452 ; P = 0$).

Parallèlement un schéma similaire a été observé sur les feuilles de clémentiniers (Fig. 55B). La teneur minimale a été également notée le 24 juillet (23,55mg/g MS), avec une accumulation graduelle atteignant 39,457mg/g MS signalée le 21 août, de même les teneurs comprises entre 38 et 41mg/g MS relevées dans la période du 21 août au 09 septembre se sont montrées égales ($F_8 = 34,536 ; P = 0$).

IV-6-1-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

D'une manière générale, une réduction continue dans les teneurs en composés phénoliques a été observée au cours de la période automnale. C'est ainsi que la teneur maximale, disponible sur les pousses d'orangers estimée à raison de 19,53mg/g MS (Fig. 57A), a été enregistrée sur les premiers relevés. Alors que la minimale enregistrée en fin du cycle phénologique de la plante (04 décembre) se chiffre à 12,82mg/g MS ($F_{10} = 27,063 ; P = 0$).

Comme pour les orangers, en fonction de l'âge des feuilles, une baisse dans la distribution des composés phénoliques totaux a été observée le long de la saison d'automne des clémentiniers (Fig. 55B) ; un maximum relevé le 25 septembre avec 39,153mg/g MS et un minimum de l'ordre de 18,81 à la fin de la saison ($F_{10} = 147,392 ; P = 0$).

IV-6-2- Comparaison entre les différentes poussées de sève

Les observations faites sur les changements quantitatifs saisonniers montrent que le niveau des composés phénoliques totaux le plus bas a été noté sur la première poussée de sève et cette même poussée a présenté les teneurs les plus élevées. Alors que, majoritairement, par âge foliaire, la deuxième poussée l'emporte.

En comparaison avec les données relevées sur les pousses de printemps, la saison automnale se caractérise par une première période dont les teneurs sont relativement importantes et une seconde avec des valeurs faibles (Fig. 56).

Chez les orangers, l'analyse des données moyennes a décelé l'influence de la saison sur le comportement métabolique des agrumes ($F_3 = 130,152 ; P = 0$). En effet, les teneurs rapportées sur les figures 56A indiquent que la quantité moyenne la plus élevée a été enregistrée sur le feuillage d'été (18,78mg/g MS). Ceci laisse penser l'importance des conditions biotiques et abiotiques dans

la synthèse des composés secondaires dits de défense, suivie du feuillage de printemps (16,85 mg/g MS) et d'automne (16,27mg/g MS) ; moyennes égales, et enfin les pousses rebelles avec 12,11 mg/g MS.

Les informations enregistrées sur les pousses de clémentiniers (Fig. 56B) confirment les résultats obtenus précédemment. L'analyse des données a également mis en exergue la répartition saisonnière des composés phénoliques totaux ($F_3 = 65,412$; $P = 0$). C'est la saison estivale qui enregistre la quantité moyenne la plus élevée avec 35,99mg/g MS, suivie de celle de printemps (30,35mg/g MS). Les composés phénoliques totaux se sont montrés significativement moins disponibles sur celle d'automne (26,72mg/g MS) par rapport à la première poussée, mais plus abondants comparativement aux pousses rebelles (23,226mg/g MS).

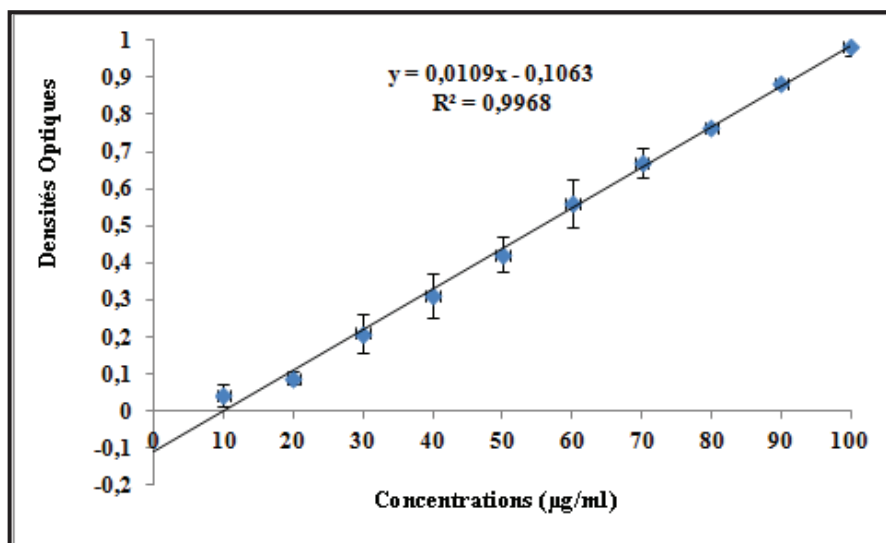


Figure 54 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

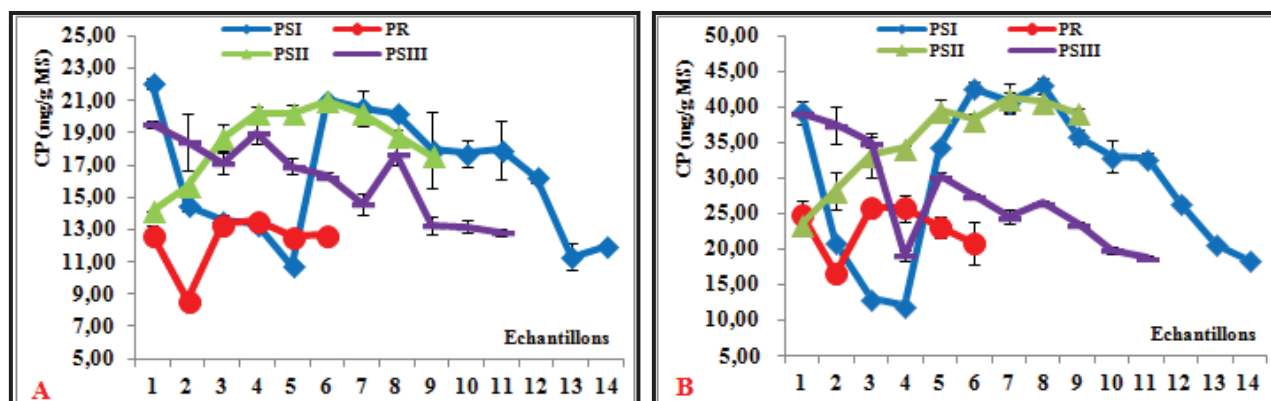


Figure 55 : Evolution chronologique de la teneur des composés phénoliques totaux (A = oranges ; B = clémentiniers).

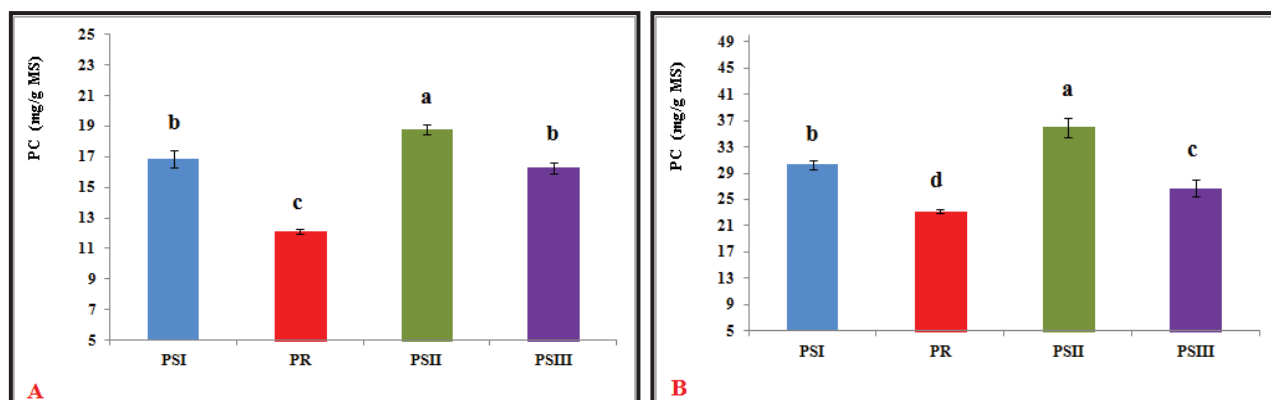


Figure 56 : Moyennes des teneurs des composés phénoliques totaux, par poussée de sève (A = oranges ; B = clémentiniers). Les moyennes présentées par des lettres différentes sont significativement différentes (Newman-keuls, $P \leq 0,05$).

IV-6-3- Relation entre la teneur en composés phénoliques totaux et le taux de contamination

IV-6-3-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Comme précédemment, la relation ne peut être établie en raison de l'absence d'infestations sur les pousses de printemps.

IV-6-3-2- Pousses rebelles

Les observations faites sur les pousses rebelles ont montré sans équivoque que la réceptivité des feuilles à *P. citrella* est due aux faibles teneurs des métabolites de défense disponibles. Sur ces pousses tendres des orangers, les valeurs estimées ont été liées directement aux taux de contaminations enregistrés (Fig. 57). Celles-ci confirment par conséquent l'existence d'une corrélation positive entre les deux paramètres avec un coefficient faible " $r = 0,224$; $P = 0,335$ ", contrairement à la relation négative montrée chez les clémentiniers ou " $r = -0,13$; $P = 0,435$ ".

IV-6-3-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Il est important de signaler que les contaminations sont très élevées sur les deux espèces d'agrumes étudiées notamment celles enregistrées à partir du 04 août, dont la plupart des valeurs balancent entre un taux de 97 et 100%. Chez les orangers (Fig. 57A), les teneurs les moins importantes enregistrées tout au début des premières analyses sont synchrones avec le début des activités du phytophage, alors que les contaminations les plus fortes induisent d'avantage de synthèse de composés de défense. Cette dépendance confirme l'étroite relation entre le niveau des contaminations et les teneurs en composés phénoliques totaux. En effet, les deux facteurs justifient une corrélation positive et significative ($r = 0,724$; $P = 0,014$).

Les résultats des clémentiniers (Fig. 57B) indiquent clairement la présence d'une relation proportionnelle entre les taux de contaminations et les teneurs en composés phénoliques. Comme pour l'espèce citricole précédente, les teneurs les plus élevées ont été obtenues lorsque les contaminations ont été aux maximums, déterminant par conséquent une corrélation positive et significative ($r = 0,899$; $P = 0,0005$).

IV-6-3-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

Les mêmes tendances des deux facteurs ont été observées sur le feuillage des orangers (Fig. 57A). C'est ainsi que des valeurs extrêmes de métabolites de défense ont été enregistrées parallèlement à une activité importante des adultes de l'insecte, alors que les infestations minimums engendrent une synthèse également minimums, confirmant l'étroite corrélation positive et significative entre le niveau des contaminations et les teneurs des composés phénoliques totaux ($r = 0,789$; $P = 0,002$).

Chez les clémentiniers (57B), la corrélation ($r = 0,670$; $P = 0,012$) entre la teneur les deux paramètres confirme les résultats enregistrés sur les orangers.

IV-6-4- Relation entre les taux moyens des contaminations et les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux (entre poussées de sève)

Le taux moyen de contamination le plus important a été montré durant la poussée d'été (95,85%) induisant une teneur moyenne maximale (18,78mg/g MS), suivie des pousses de printemps et d'automne (16,85 et 16,27mg/g MS) avec 67,55 et 0% de feuilles infestées respectivement, et enfin des pousses rebelles caractérisée par une teneur en composés phénoliques faible (12,11mg/g MS) et des feuilles moins fréquentées (17,67%) par *P. citrella* (Fig. 58A).

Comme pour l'espèce citricole précédente, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées également sur la seconde poussée de sève (35,99mg/g MS de polyphénols pour 94% d'infestation), alors qu'une régression des deux paramètres a été observée sur les pousses d'automne et pousses rebelles. Par ailleurs, en absence de toute activité du phytophage, une teneur moyenne relativement supérieure à celle d'automne (30,35mg/g MS) a été observée au printemps (58B).

Les résultats obtenus aussi bien sur les clémentiniers ($r = 0,285$; $P = 0,357$) que les orangers ($r = 0,559$; $P = 0,221$) confirment clairement la présence d'une corrélation proportionnelle (positive) entre les taux de contaminations et les teneurs en composés phénoliques totaux.

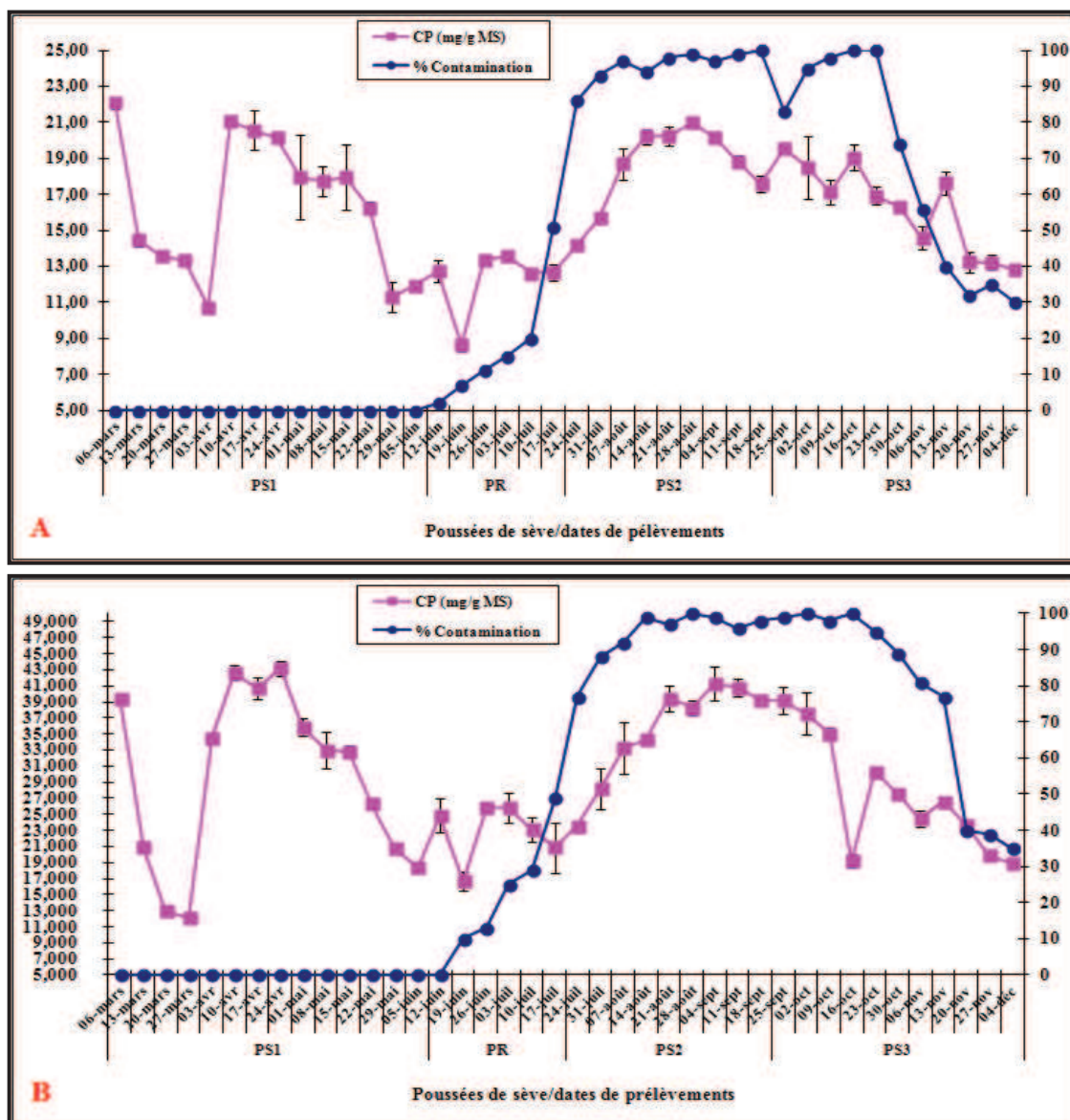


Figure 57 : Relation entre les teneurs des composés phénoliques totaux et les taux de contamination (A = orangers ; B = clémentiniers).

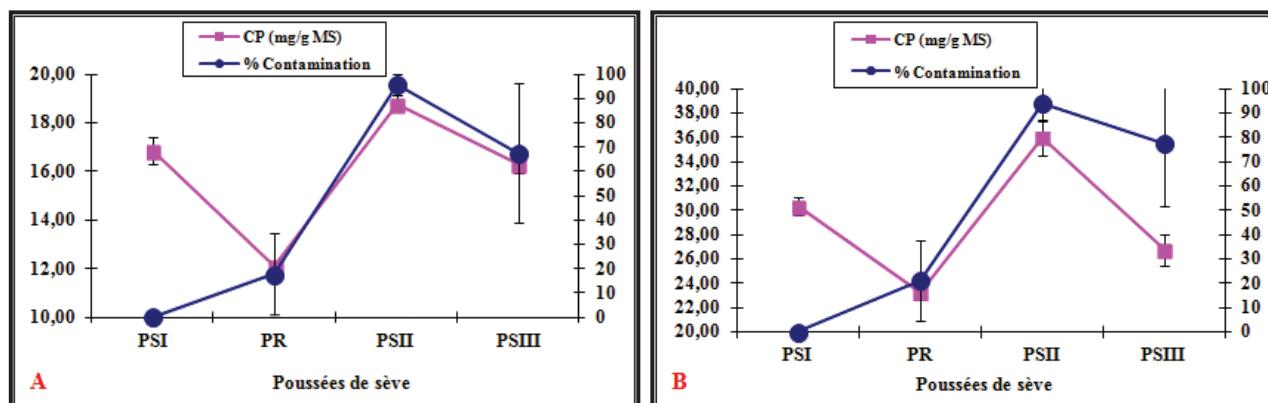


Figure 58 : Relation entre les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux et les taux moyens de contamination, par poussée de sève (A = orangers, B = clémentiniers).

IV-6-5- Dosage et caractérisation des composés phénoliques par HPLC-DAD

Les profils chromatographiques des différents extraits de *Citrus* sont représentés au niveau des figures 61, 62, 63, 64, 65, et 66, tandis que les résultats des analyses qualitatives et quantitatives sont mentionnés dans les tableaux 13 et 14. Notons qu'au cours des dépouillements, la plupart des composés n'ont pas pu être identifiés par manque des substances phénoliques de références (les standards).

Dans cette étude, les substances permettant la sélection alimentaire par les larves, et plus particulièrement celles intervenant dans la prise de nourriture, ont été recherchées. Il s'agit de la rutine et la quercétine.

L'identification des composés phénoliques contenus dans les différents extraits a été faite par comparaison des spectres UV des substances phénoliques disponibles et leurs étalons respectifs (Fig. 59). Les analyses ont été répétées 3 fois.

L'évaluation quantitative des composés identifiés a été déterminée à partir de l'équation de régression de la substance étalon (Fig. 60) : La rutine (aire = $8325,69x-6,848$) et la quercétine (aire = $28,71x-120,874$) et l'aire de chacun des pics correspondants.

Dès la première vue, l'absence totale de la rutine et son aglycone la quercétine sur les pousses de printemps a été enregistrée. Alors que leurs concentrations varient selon la saison. En effet, sur le feuillage des orangers, il a été noté $130,71 \pm 0,065$ et $2,876 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ de rutine, respectivement pendant la deuxième et la troisième poussée de sève (Tab. 13). De même pour les clémentiniers (Tab. 14), une chute de concentrations de la quercétine a été enregistrée : $40,812 \pm 0,099$ (PS₂) et $13,512 \pm 0,027 \mu\text{g/ml}$ (PS₃).

Tableau 13 : Temps de rétention, aires et concentrations de la rutine identifiés sur les poussées de sève des orangers.

Poussées de sève	Tr (mn)	Aire	^a Conc. (µg/ml)
PS ₁	0	0	0±0c
PS ₂	14,761	1081,4	130,710±0,089a
PS ₃	13,816	17,1	2,876±0,023b

^a représente les moyennes de trois répétitions (n=3).

a–b–c : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).

Tableau 14 : Temps de rétention, aires et concentrations de la quercétine identifiés sur les poussées de sève des clémentiniers.

Poussées de sève	Tr (mn)	Aire	^a Conc. (µg/ml)
PS ₁	0	0	0±0c
PS ₂	8,363	1051,2	40,812±0.047a
PS ₃	13,566	267,1	13,512±0,084b

^a représente les moyennes de trois répétitions (n=3).

a–b–c : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes (P<0,05).

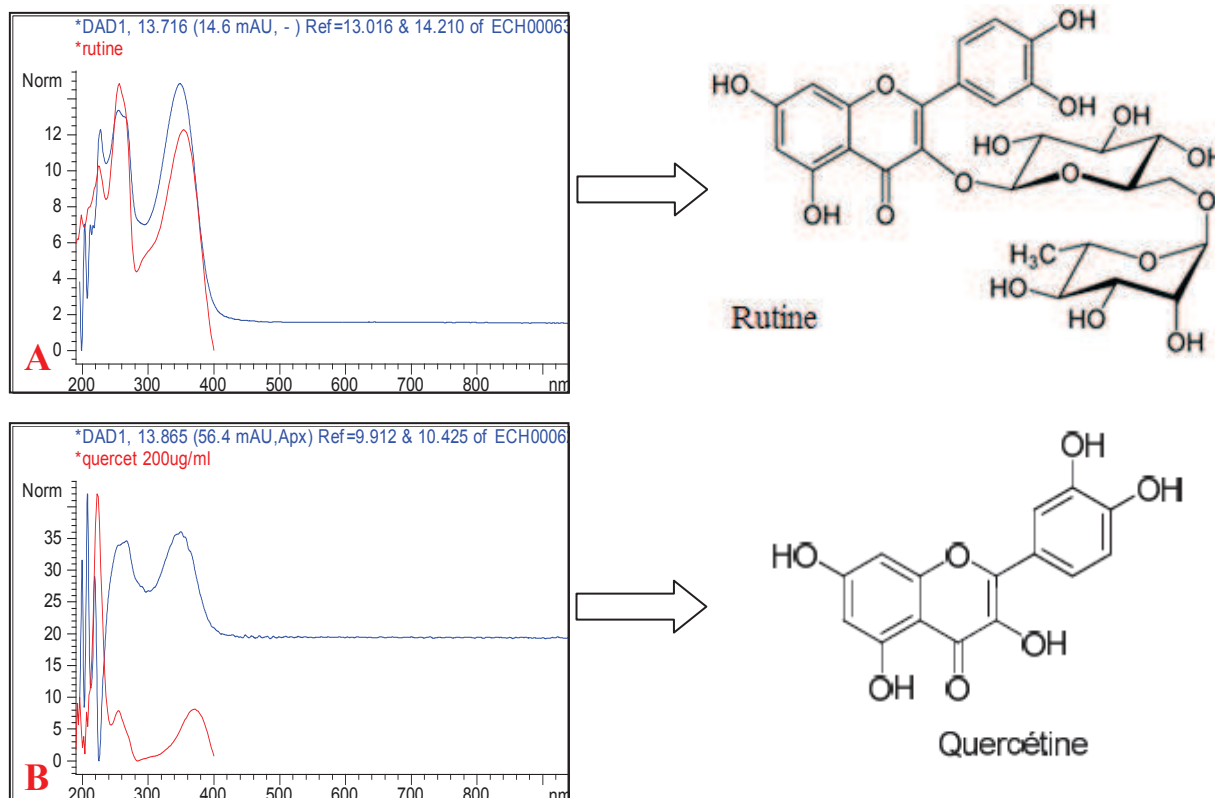


Figure 59: Spectres UV des composés phénoliques. A : Rutine et B : Quercétine.

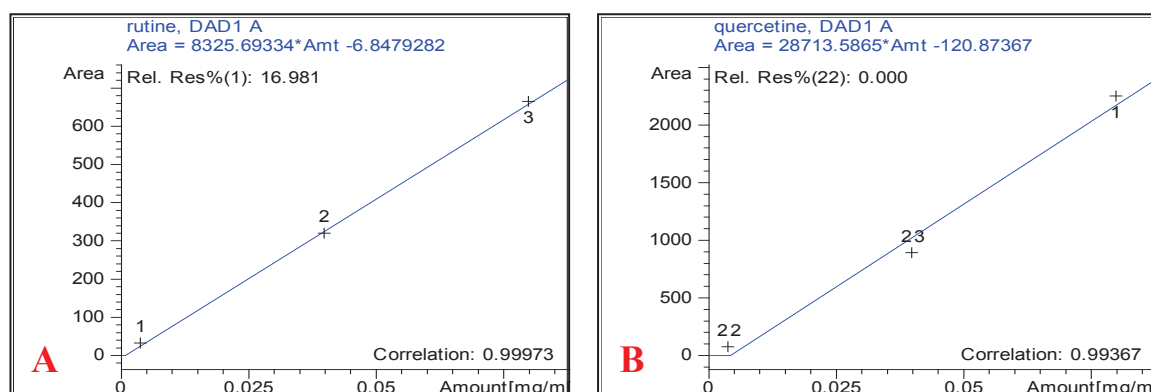


Figure 60 : Courbes d'étalonnage des composés phénoliques de référence (standards). A : Rutine, B : Quercétine.

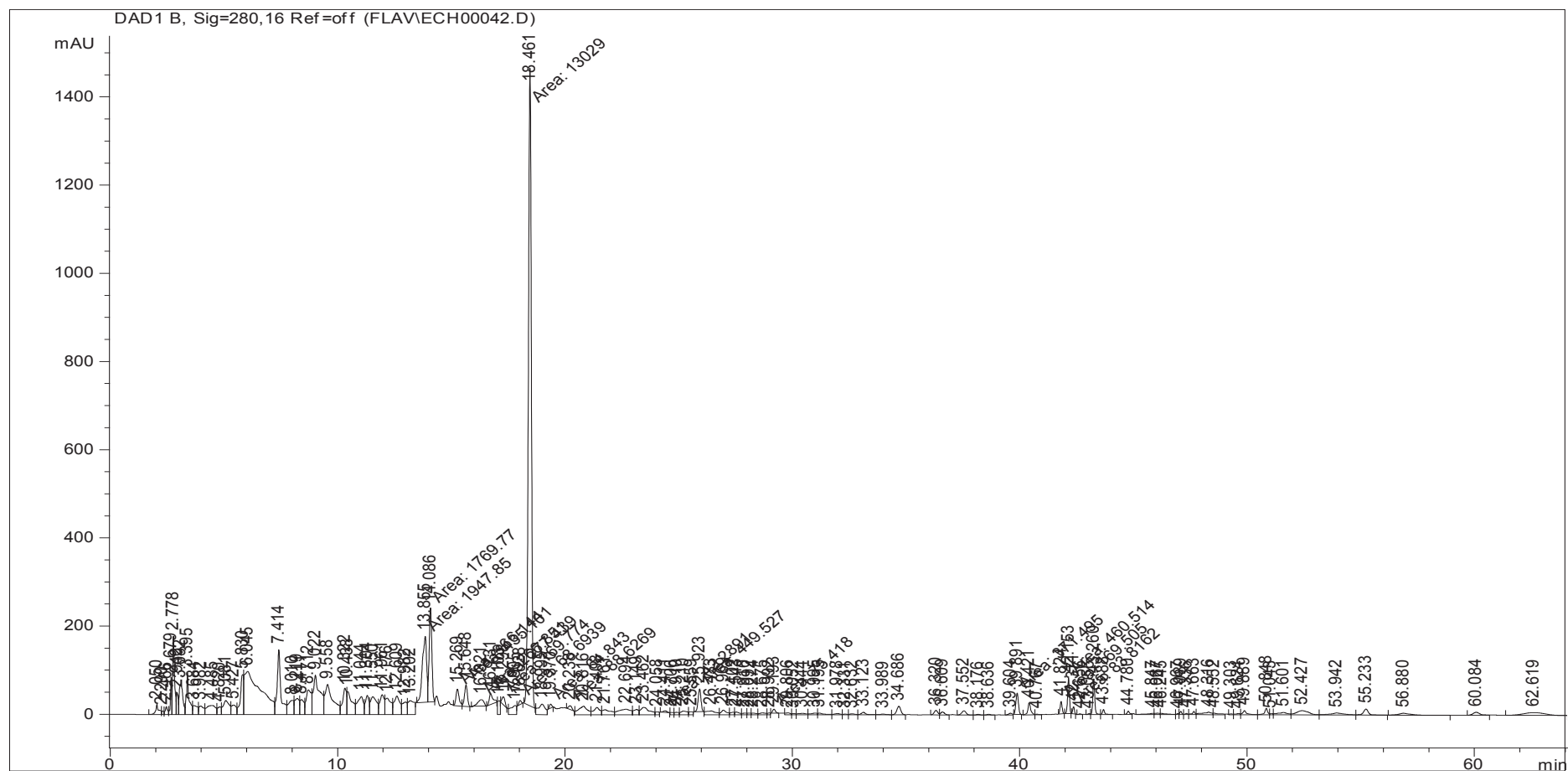


Figure 61 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus sinensis* (orangers), prélevées pendant la première poussée de sève (11 avril 2008).

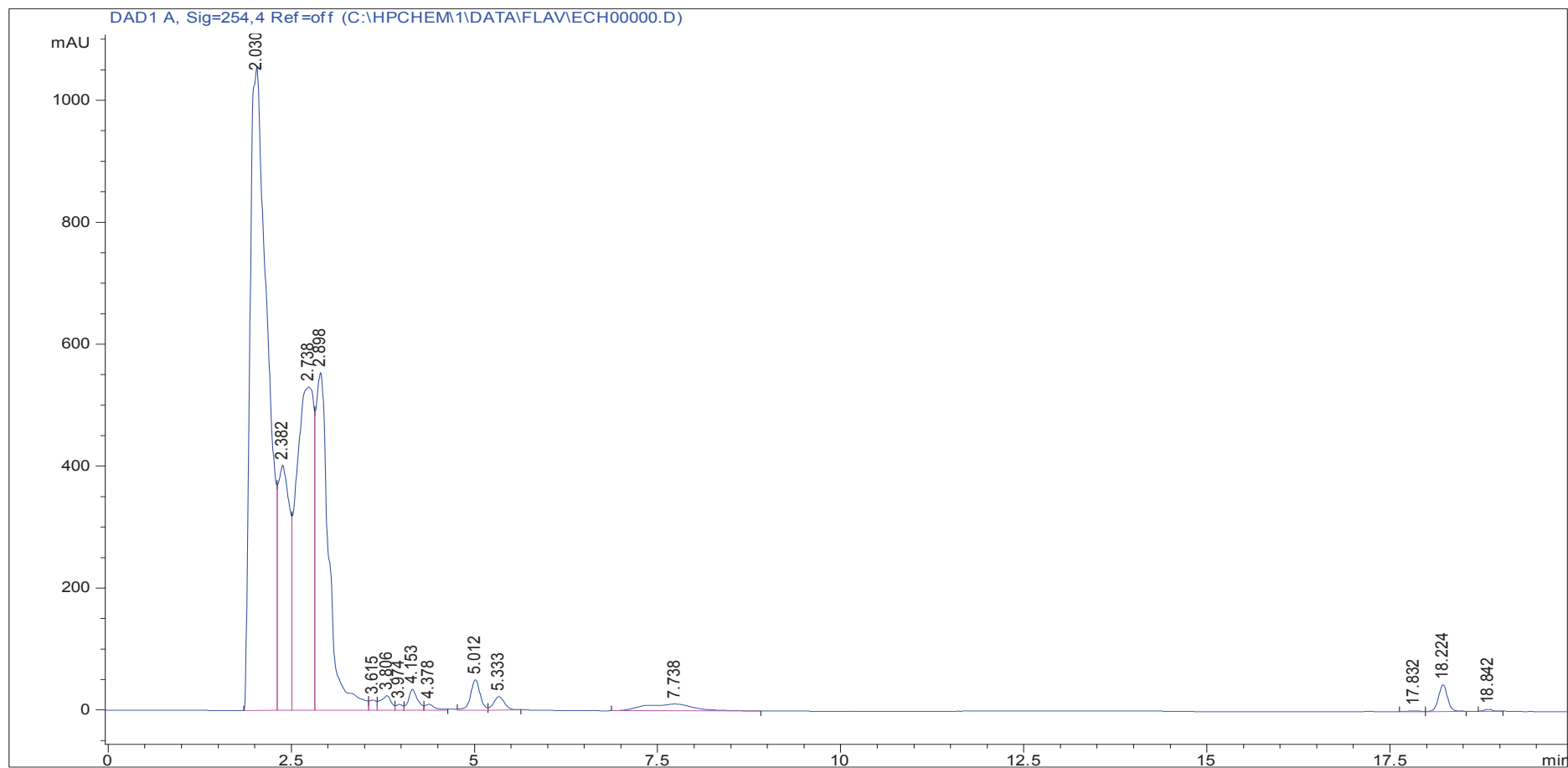


Figure 62 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus clementina* (clémentiniers), prélevées pendant la première poussée de sève (11 avril 2008).

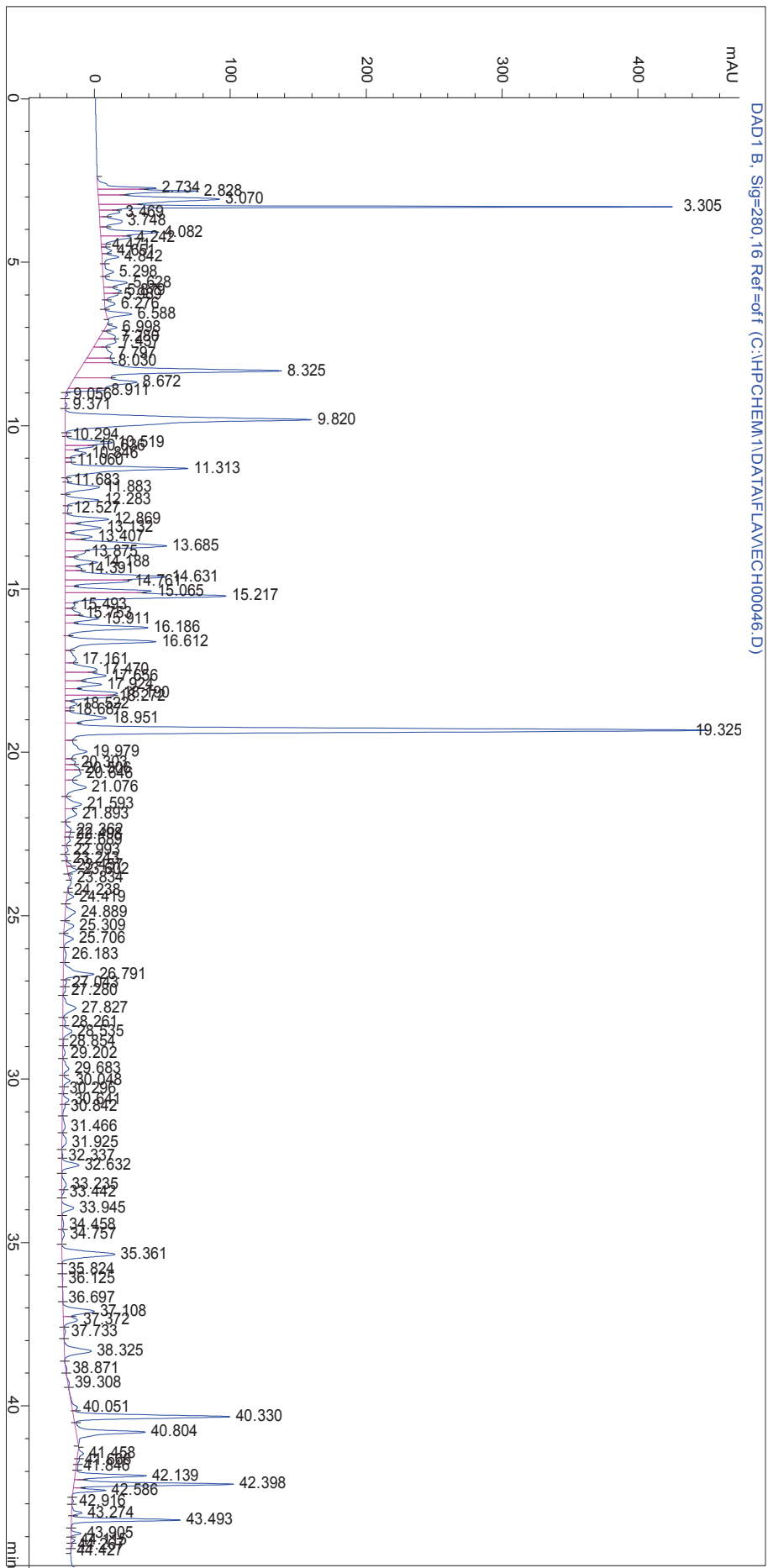


Figure 63 : Profil chromatographique (HPLC - DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus sinensis* (orangers), prélevées pendant la deuxième poussée de sève (18 septembre 2008).



Figure 64 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus clementina* (clémentiniers), prélevées pendant la deuxième poussée de sève (18 septembre 2008).

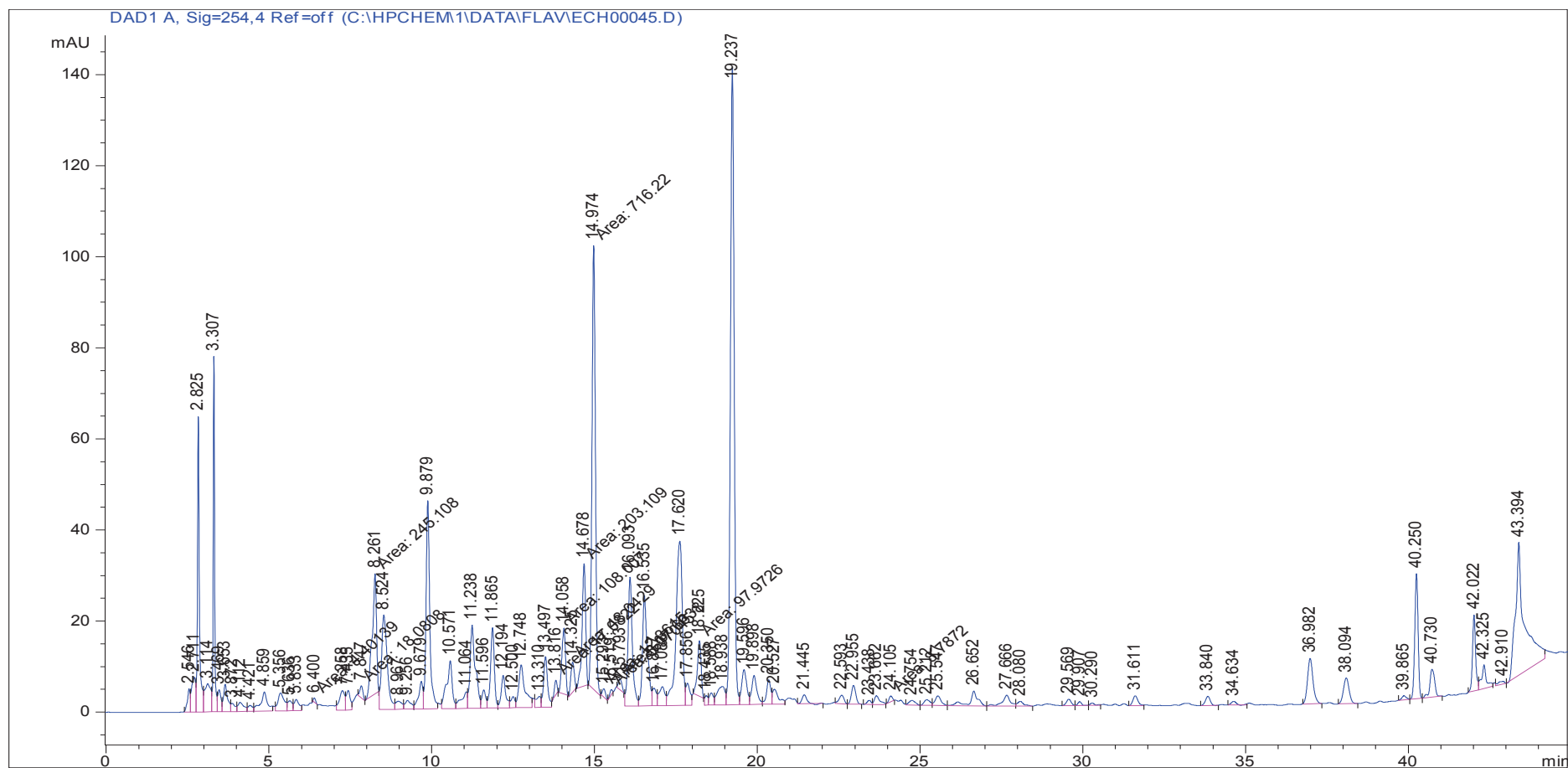


Figure 65: Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus sinensis* (orangers), prélevées pendant la troisième poussée de sève (13 novembre 2008).

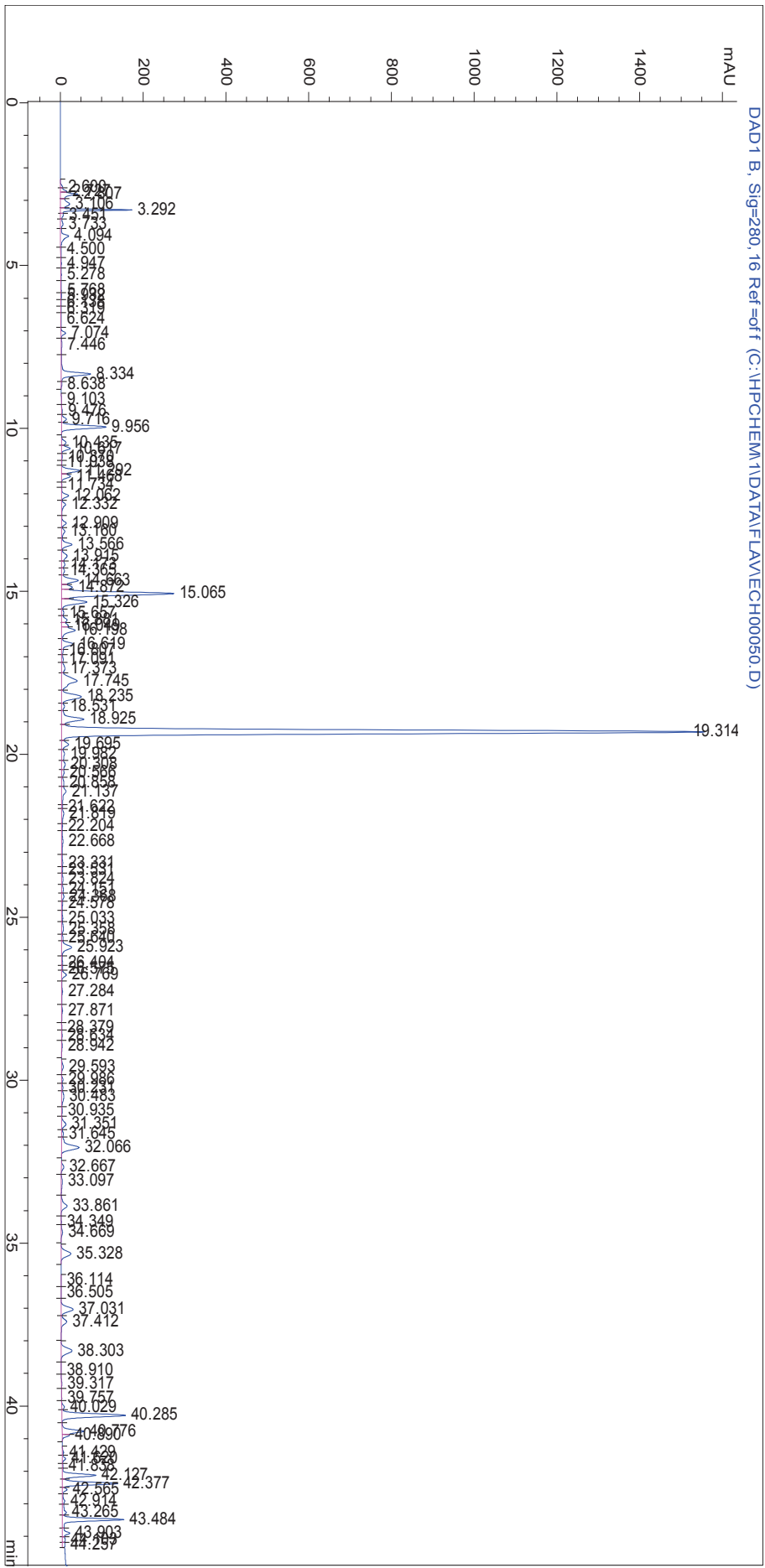


Figure 66 : Profil chromatographique (HPLC- DAD) de l'extrait méthanolique des feuilles de *Citrus clementina* (clémentiniers), prélevées pendant la troisième poussée de sève (13 novembre 2008).

IV-6-6- Relation entre la teneur en composés phénoliques totaux et l'équilibre C/N

IV-6-6-1- Première poussée de sève (Pousses de printemps)

Exceptionnellement, les composés phénoliques, dans une première phase, diminuent progressivement au moment où le rapport C/N augmente (Fig.67). La même remarque a été également notée sur la deuxième période de cette strate végétative, mais avec des valeurs différentes. Ces données révèlent une corrélation négative très faible chez les orangers ($r = -0,06$; $P = 0,419$) et légèrement positive sur les pousses de printemps des clémentiniers ($r = 0,126$; $P = 0,334$). D'une manière générale, il peut être suggéré qu'une absence de corrélation entre la production des phénols et les rapports C/N a été obtenue.

IV-6-6-2- Pousses rebelles

En raison du nombre faible (Fig. 67) des échantillons (06), une corrélation positive mais de moindre importance a été déterminée chez les orangers ($r = 0,444$; $P = 0,189$) et les clémentiniers ($r = 0,273$; $P = 0,3003$).

IV-6-6-3- Deuxième poussée de sève (pousses d'été)

Pour les clémentiniers (Fig. 67B), hormis les valeurs notées dans la période du 28 août au 18 septembre, des évolutions proportionnelles ont été observées entre les deux facteurs, l'augmentation graduelle des teneurs en composés phénoliques a été accompagnée d'un accroissement des rapports C/N. Alors que les résultats des orangers (Fig. 67A) semblent être moins reliés. Les deux paramètres étudiés permettent de définir une corrélation positive chez les deux espèces d'agrumes (orangers $r = 0,383$; $P = 0,154$; clémentiniers $r = 0,644$; $P = 0,0306$).

IV-6-6-4- Troisième poussée de sève (pousses d'automne)

Hormis quelques valeurs notées le long de cette phase du cycle des deux espèces étudiées (Fig. 67), la régression des phénols a été induite par une réduction des équilibres C/N, indiquant une nette corrélation positive ; $r = 0,766$; $P = 0,003$ et $r = 0,536$; $P = 0,045$.

IV-6-7- Relation entre les teneurs moyennes en composés phénoliques totaux et les équilibres moyens C/N (entre poussées de sève).

L'évolution de la teneur en composés phénoliques totaux, entre poussées de sève, semble dépendre de la balance C/N (Fig. 68). En effet, l'augmentation de la valeur moyenne enregistrée sur les pousses d'été (orangers = 18,78 ; clémentiniers = 35,99mg/g MS) est liée directement à la disponibilité en nutriments, ainsi qu'à l'élévation du rapport C/N, soit 9,89 et 11,70 respectivement pour les orangers et les clémentiniers. Par contre, aucune variation quantitative en phénols n'a été observée entre la première et la troisième poussée de sève des orangers, ceux-ci engendrés par des

équilibres C/N équivalents. Chez les clémentiniers, malgré des équilibres C/N égales, les teneurs en composés phénoliques totaux sont distinctes ($PS_1 = 30,35$; $PS_3 = 26,72\text{mg/g MS}$). Comparativement, les pousses rebelles, moins riches en phénols, montrent alors des rapports C/N plus importants que ceux notés sur les pousses de printemps et d'automne.

De ces faits, que se soit pour les orangers ou les clémentiniers, une corrélation positive marque la liaison entre ces deux paramètres, soit $r = 0,579$; $P = 0,2105$ (orangers) et $r = 0,471$; $P = 0,2648$ (clémentiniers).

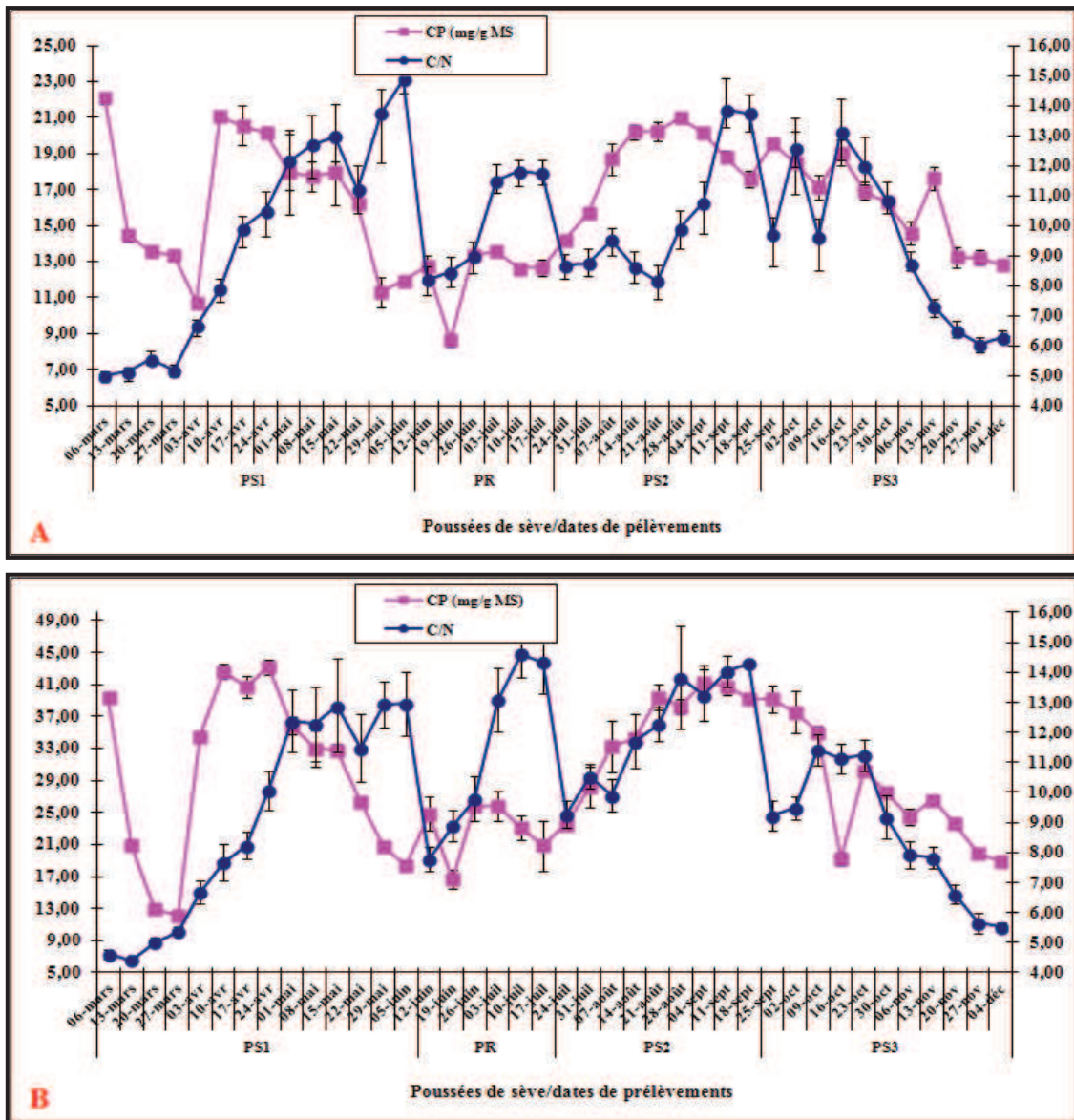


Figure 68 : Relation entre les teneurs des composés phénoliques totaux et les équilibres C/N (A = orangers ; B = clémentiniers).

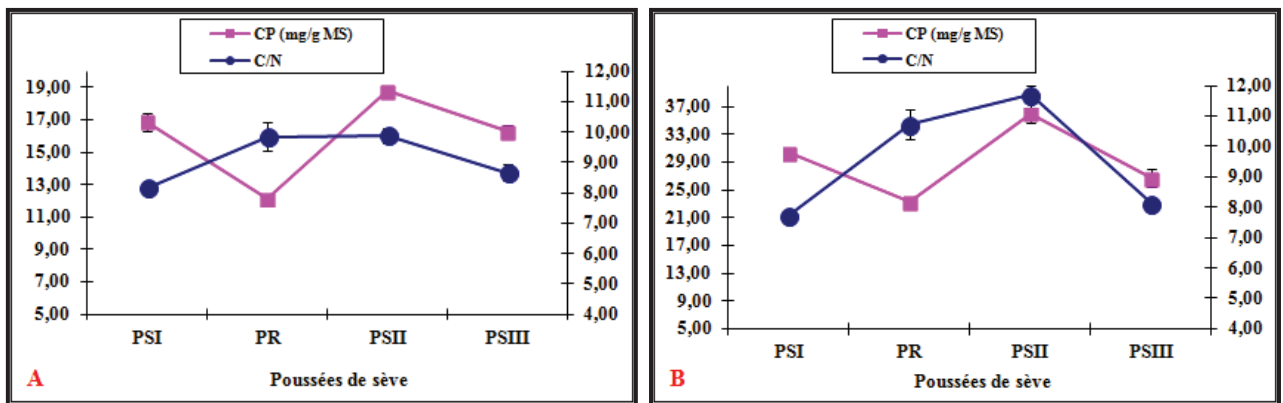


Figure 68 : Relation entre les teneurs moyennes des composés phénoliques totaux et les équilibres moyens C/N, par poussée de sève (A = orangers ; B = clémentiniers).

V- Discussion

L'évaluation des taux de contaminations de *P. citrella*, effectuée dans les conditions environnementales méditerranéennes a montré le rôle important des agrumes dans la répartition saisonnière des infestations. En effet, la première poussée de sève (pousses de printemps) échappe habituellement aux agressions du phytophage (Argove et al., 1995 ; Berkani et al., 1996), alors que des pics d'infestation sont observés aux mois d'août, septembre et octobre ; les strates végétatives d'été et d'automne se sont avérées très sévèrement attaquées.

En raison des conditions printanières jugées favorables au développement de l'insecte (température comprise entre 14,08 et 23,21 °C) (Tableau 12 Annexe 4), Les fluctuations des degrés de contaminations de *P. citrella* semblent dépendre de la nature et de la composition chimique des sites d'oviposition (feuillage).

De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude de l'effet de la température sur l'activité des insectes. Selon Scarr (1998), un réchauffement du climat au printemps entraîne un développement rapide du feuillage de l'hôte, ce qui affecte l'émergence et la fréquence des phytophages. Ainsi, le seuil thermique de développement de la mineuse, qui est de l'ordre de 12,2° C (Guerrou, 1974), coïncide avec l'initiation de l'activité végétative des agrumes ; celle-ci ne peut avoir lieu qu'à des températures supérieures à 12,5 °C (Cassin et al., 1969). De plus, Lim et Hoy (2006), dans le centre de la Floride, ont conclu que les femelles de *P. citrella* passent l'hiver au stade adulte et sans diapause, sur les quelques petites pousses disponibles sur citronnier (*Citrus jambhiri* Lushington). Sous ces conditions hivernales, les adultes femelles peuvent survivre plus de cinq mois à des températures basses (Huang et al., 1989), puis apparaissent dans les plantations tôt au printemps (Balachowsky, 1966).

Toutes ces données indiquent que la plante hôte par ses caractéristiques chimiques peut dans une certaine mesure influencer sur les performances biologiques de *P. citrella*. En effet, la qualité de la plante hôte constitue la clé déterminante de la fécondité des insectes phytophages. Les éléments chimiques constitutifs de cette qualité comme le carbone, l'azote et les métabolites de défense affectent directement le potentiel et accomplissent leurs fécondités. La qualité de la plante hôte affecte également les stratégies reproductives des insectes, tels que le choix des sites d'oviposition qui est crucial pour le devenir des larves (Awmack et Leather, 2002).

La qualité nutritionnelle montrée par une plante hôte est l'un des principaux facteurs intervenant dans le choix du site d'oviposition ; disponibilité en hydrocarbures et en azote (Ohgushi, 1992). Selon Scheirs et al., (2001), *Chromatomyia milii* et *C. nigra* (diptères) comme la plupart des insectes phytophages de type mineuse (Exemple : *Phyllocnistis citrella*) localisent leur

alimentation sur le mésophile foliaire de *Holcus lanatus* L. (Poaceae), en raison de sa richesse en composés nutritionnels et sa structure la moins rigide.

Les femelles de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Gracillariidae) orientent leur choix de ponte vers les feuilles très jeunes, riches en éléments nutritifs et mesurant entre 1 et 3cm (*Citrus limon*) de longueur (Kharrat et Jarraya, 2005) et 1 et 2,5cm chez *Citrus aurantium* (Vercher et al., 2008), se trouvant dans la partie apicale des rameaux (Jarraya et al., 1997), que celles des pousses âgées de la base. Généralement, les feuilles jeunes présentent une meilleure qualité nutritive pour l'alimentation des insectes (Dixon, 1985).

Le carbone, l'un des composantes nutritionnelles des insectes, est un élément majeur intervenant dans la croissance et le rendement des cultures (Gifford et al., 1984). D'après les résultats obtenus, il ressort que les deux espèces d'agrumes étudiées ont accumulé des taux élevés de carbone durant la deuxième et la première période de la troisième poussée de sève (septembre et octobre), coïncidant avec des conditions climatiques plus favorables, devrait avoir un rapport avec le phénomène photosynthétique. En effet, la durée et l'intensité lumineuse forte par exemple influence positivement la photosynthèse, qui se traduit chez la plante par une augmentation de synthèse de matières organiques carbonées (Stiling et Cornelissen, 2007) indispensables à la croissance, la reproduction et le stockage. Alors qu'en fin de cycle, de fortes concentrations d'hydrates de carbone ont été emmagasinés dans les feuilles de *Citrus* sous forme de réserves (Goldschmidt et Golomb, 1982 ; Goldschmidt and Koch, 1996).

Les réserves des carbohydrates accumulées dans les feuilles des agrumes, montrent le même niveau avant et après la végétation de printemps (Monerri et al., 2011). Elles sont mobilisées pour la croissance des pousses de printemps (Goldschmidt et Koch, 1996), des fleurs (Smith, 1976; Goldschmidt et Golomb, 1982 ; Monerri et al., 2011) et des fruits (Akao et al., 1981 ; Monerri et al., 2011).

Il est important de noter que la quantité de carbone, réellement, accumulée sur les pousses d'été (deuxième poussée de sève) et d'automne (troisième poussée de sève) est beaucoup plus élevée que celle estimée. Précisément, la matière organique produite a été destinée non seulement aux besoins physiologiques et structuraux de la plante, mais également à la nourriture des larves de *P. citrella*. Ceci permet de dire que les performances larvaires dépendent fortement de la qualité et la quantité de la nourriture biodisponible. Scheirs et al. (2001) rapporte que la qualité nutritionnelle d'une surface foliaire minée est sensiblement inférieure à celle saine, en argumentant ce résultat par le fait que les larves vivantes sous la cuticule tendent à absorber la plupart des nutriments tissulaires présents.

P.citrella oriente son choix d'alimentation selon ces besoins métaboliques, pour cela il développe toute une série de comportements a fin d'augmenter au maximum l'assimilation de matières carbonées provenant des feuilles de *Citrus*. L'augmentation du taux de carbone pendant la deuxième poussée de sève a engendré une accumulation des hydrates de carbone par rapport à la poussée printanière, ce qui laisse dire que le sucre est la principale source d'énergie pour *P.citrella*. En effet, parmi les composés ayant montré un impact sur l'alimentation des lépidoptères, il y'a principalement les sucres (Panzuto et al., 2002 ; Noseworthy et Despland 2006). Il est généralement reconnu pour son effet d'augmenter le poids des adultes et de diminuer le temps de développement des insectes (McLaughlin, 1986). En général, ces sucres solubles sont connus comme étant les phagostimulants les plus importants pour de nombreux lépidoptères (Albert et Parisella, 1988 ; Bemays et Chapman 1994).

Pour chacune des poussées de sève contaminées, les teneurs en carbone évoluent inversement par rapport à l'abondance de *P. citrella*. Ces données corroborent celles de la littérature, la consommation des feuilles et la déposition des œufs, chez *Ribes nigrum* L. par exemple, sont négativement corrélées avec les concentrations foliaires du carbone. Des concentrations plus élevées en composés à base de C, tels que les glucides de structure, ont souvent des effets négatifs sur les insectes phytophages en rendant la mastication plus difficile (Awmack et Leather, 2002). Bien que certains nutriments, comme les sucres, stimulent l'alimentation (Chapman, 2003).

Tout comme le carbone, l'azote est un constituant majeur des végétaux. Sa déficience se répercute au niveau de nombreux phénomènes métaboliques et physiologiques, notamment l'accumulation de matière sèche c'est-à-dire la croissance. Il représente environ 80% des éléments minéraux totaux absorbés par les plantes (Marschner, 1995). Sa disponibilité suffisante devrait avoir un effet sur l'augmentation de la biomasse aérienne, le rendement et la qualité des fruits des agrumes (Ouma, 2006). En revanche, l'azote constitue l'élément nutritionnel jouant un rôle prédominant dans l'alimentation et les performances des insectes phytophages (Matson, 1980 ; Stiling et Cornelissen, 2007).

A l'exception des échantillons prélevés lors des mois de novembre et décembre (troisième poussée de sève) et pour le même âge des feuilles, les plus fortes teneurs en azote ont été notées sur les pousses de printemps (PS₁). Cependant, comme le carbone, la fin du cycle phénologique des deux espèces agrumicoles a été caractérisée par une accumulation de composés à base d'azote servant de réserves pour le déclenchement de la végétation ultérieure.

D'après les résultats enregistrés, il est clair que l'azote réparti au début du printemps est nettement supérieur à celui accumulé en fin d'automne, ce qui permet de confirmer les travaux de Mattos et al., (2003) sur *Citrus sinensis*.

Chez les *Citrus*, arbres à feuillage persistant, les feuilles constituent un site important pour le stockage d'azote. Après avoir été mis en réserve pendant la période de croissance inactive, ce dernier subit une translocation vers les nouvelles feuilles et pousses en développement lors de la première poussée de sève. Kato (1986) a constaté que 20% d'azote détecté sur les pousses de printemps provenaient des feuilles d'automne. Par ailleurs, Moreno et Garcia-Martinez (1984) ont montré que la mobilisation de l'azote de réserves sur les pousses de printemps est le résultat des processus biochimiques dans laquelle le contenu en protéines totales des anciennes feuilles diminue progressivement, et que la protéine mobilisée provient d'une protéine aqueuse constituant la majeure fraction des protéines totales foliaires.

La répartition de l'azote évolue différemment au cours des saisons. En printemps, l'azote décline considérablement, alors que sa distribution paraît diminuée délicatement en été et pendant la première phase automnale. Quelque soit l'intensité de la réduction observée, l'azote diminue avec la progression de la saison (Filip et al., 1995). Cette différence semble être liée, également, à la phénologie de la plante. En effet, les fortes demandes en azote s'opèrent durant la phase de la floraison et le processus de la fructification des agrumes lors de la première poussée de sève (Alva et al., 2006). En plus, la plante comptabilise, par conséquent, une biomasse foliaire allant de 51 à 96% de nouvelles pousses formées annuellement (Garcia-Mari et al., 2002).

La relation entre l'azote et l'invasion des insectes phytophages est controversable. Heard et Winterton (2000) rapportent que le taux de croissance ou de développement pour certains insectes dépend directement de la teneur en azote disponible notamment sur feuillage jeune. Dans la même perspective, Moran et Hamilton (1980) et Furlan et al. (1999) montrent que l'augmentation de la concentration pourrait stimuler les dommages foliaires. Cependant, un nombre élevé d'individus survivants de *Phoetaliotes nebrascensis* (Orthoptera: Acrididae) ont été trouvés lorsqu'ils ont été soumis à un traitement pauvre en azote (Joern et Behmer, 1998). Chez les espèces d'agrumes, la disponibilité en azote est négativement reliée aux taux de contamination de *Phyllocnistis citrella*. Les faibles écarts entre les échantillons peuvent probablement indiquer, comme chez de nombreux lépidoptères (Noseworthy et Despland 2006), que l'azote ne présente pas un grand impact sur l'alimentation des larves de la mineuse des feuilles d'agrumes, contrairement aux composés primaires à base de carbone. En outre, par poussée de sève, la plus forte teneur d'azote total a été observée lorsque les infestations ont été absentes, alors que sa réduction a entraîné une

augmentation dans les taux de contamination de *P. citrella*. Les travaux d'Ateyyat et Mustapha (2001) ont montré que l'augmentation de la fertilisation azotée, tentée sur *Citrus lemon*, a donné lieu à un nombre croissant de larves et de nymphes vivantes de *P. citrella*. Le nombre élevé a été obtenu à 0,85Kg d'Urée par arbre, chiffre duquel le nombre a commencé à décroître.

La composante des métabolites anti-nutritionnels représente une part expressive de la qualité chimique des espèces hôtes. Ainsi, les plantes, pour lutter contre les espèces phytophages auraient, selon plusieurs théories, développé au cours de leur évolution, tout un panel de stratégies de natures diverses. Ces défenses peuvent être chimiques notamment par l'élaboration de substances de défenses (Dugravot, 2004). Durant les cycles phénologiques des orangers et clémentiniers, plusieurs facteurs semblent avoir un effet sur les différentes quantités de phénols produits par les feuilles. Les concentrations en composés phénoliques totaux varient largement selon la saison, le stade physiologique de la plante et la phase de développement du feuillage. En effet, au cours de la première poussée de sève des deux espèces citricoles, l'amoindrissement successif des teneurs en composés phénoliques totaux au mois de mars explique les fortes demandes de la plante en nutriments indispensables à la croissance foliaire et à l'initiation florale. Alors que les valeurs enregistrées aux mois d'avril, mai et juin, pendant lequel les exigences physiologiques sont relativement amoindries confirment l'influence des taux de carbone, d'azote et le rapport C/N. selon Harper (1989), les tissus jeunes en voie de développement renferment généralement des concentrations élevées en nutriments, afin de supporter leur croissance rapide.

En été (deuxième poussée de sève) et pendant la première période du troisième poussée de sève, lors du grossissement du fruit, le carbone présent en excès avec un rapport C/N important constitue une source d'énergie utilisée par la plante pour sa croissance, sa reproduction, le stockage et par conséquent la synthèse des métabolites secondaires (à base de carbone) (Bryant et al., 1983). Il convient donc de dire que la quantité de métabolites de défense élaborée est liée à la disponibilité en carbone et la présence d'autres nutriments dans la sève. Lorsque le carbone est en excès, il renforce la synthèse des défenses naturelles à base de carbone de la plante (ex : phénols). Ces données peuvent justifier les fortes teneurs des composés phénoliques observées chez les deux espèces citricoles, pendant la deuxième et la troisième poussée de sève. Alors qu'en période printanière, la faible quantité élaborée est proportionnelle au carbone disponible et au rapport C/N. Les faibles teneurs en composés phénoliques totaux observées à partir du mois de novembre sur les pousses d'automne, coïncidant avec la maturation du fruit, sont dues à un affaiblissement de la balance C/N (le carbone est dissout dans le mélange) et à l'âge du feuillage ; les feuilles les plus âgées sont moins sujettes aux maladies et moins attractives pour les prédateurs (Swain, 1977).

Ces constats mettent en évidence une relation positive entre la disponibilité des nutriments et la production des composés phénoliques confirmant ainsi la théorie de l'équilibre carbone/nutriments ("*carbon / nutrient balance*" ou CNB). Celle-ci a été proposée pour tenir compte du fait que la concentration des métabolites secondaires à base de carbone augmente lorsque la disponibilité en éléments nutritifs, en particulier l'azote diminue et le taux de carbone total augmente. Cette disponibilité en carbone, contraint l'allocation de ces éléments aux diverses fonctions de la plante et en particulier son phénotype défensif (Bryant et al. (1983)). La balance carbone/nutriments est visualisée comme étant un important facteur qui entre dans la défense chimique des plantes, ainsi que la palatabilité entre la plante et les insectes (Hamilton et al., 2000).

Les résultats affirment donc que la disponibilité du carbone et des autres nutriments pour la plante agit comme facteur déterminant de la production de substances de défense (Bryant et al., 1983). En effet, les variations des teneurs en éléments nutritifs disponibles pour la plante (entre les poussées de sève) tendent à modifier la production des composés hydrates de carbone. Ces derniers, entrant dans la composition des métabolites secondaires de la plante, influencent la diversité (qualité) et la quantité des substances de défense du végétal (Reichardt et al., 1991). Ceci dit que les tissus végétaux à haute teneur en hydrates de carbone présentent des disponibilités en carbone plus élevées, ce qui permet la synthèse accrue par la plante de métabolites secondaires à base de carbone (Reichardt et al., 1991).

Paradoxalement, aucune corrélation n'a été obtenue entre la balance C/N et la production des métabolites secondaires, ceci peut s'expliquer par le fait que les jeunes feuilles réagissent différemment par rapport aux adultes sous l'effet des conditions climatiques en évolution.

A partir des données récapitulées par saison, il apparaît que l'acceptation de la nourriture (PS₂ et PS₃) par les larves de *P. citrella* se fait selon la balance entre déterants (phénols) et stimulants (métabolites primaires). En effet, la mineuse des feuilles des agrumes, malgré la présence d'une concentration importante de métabolites dits de défense, activent lorsque la sève est riche en nutriments (le carbone en particulier) et présente un équilibre C/N élevé. Par ailleurs, de nombreuses études ont confirmé l'existence d'une relation entre les propriétés chimiques des feuilles et les attaques des insectes phytophages, en suggérant que les métabolites secondaires agissent comme mécanismes de défense importants pour la minimisation des dommages causés par les herbivores (Brenes-Arguedas et al., 2006 ; Varanda et al., 2006 ; Niesenbaum et al., 2006). Ces constats permettent de suggérer, d'un côté, que les attaques des insectes phytophages observées sur un nombre restreint de plantes hôtes dépendent plus fréquemment de la présence ou de l'absence d'une variété de métabolites secondaires (Bernays et Chapman, 1994). Certains flavonols ont

montré leurs effets sur la phagostimulation et l'oviposition des insectes phagophages. La rutine (quercétin-3-O-rhamnosyl [1-6] glucoside) est l'un des composés phagostimulants, le plus étudié, pour de nombreux insectes, y compris *Schistocerca americana* (Bernays et al., 1991), la chenille *Heliothis virescens* (Blaney et Simmonds, 1983), *Schistocerca albolineata* (Thomas) et *Melanoplus differentialis* (Thomas) (Bernays and Chapman, 2000). De même, une étude récente a justifié l'effet de la quercétine extrait de *Cajanus cajan* sur la stimulation de la prise alimentaire du 5^{ème} stade larvaire d'*Helicoverpa armigera* (Green et al., 2002). En plus, la rutine isolée des feuilles de *Citrus unshiu* a démontré son rôle joué dans la déposition des œufs de *Papilio xuthus* L. (Nishida, et al., 1987 ; Murata et al., 2011), ainsi que les femelles de *Danaus plexippus* qui utilisent les flavonoïdes (rutine par exemple) pour la sélection de sa plante hôte *Asclepias curassavica* (Haribal et Renwick, 1996).

Etant donné que ces flavonols sont formés au moment des contaminations de *P. citrella*, ceci peut confirmer la réceptivité de *Phyllocnistis citrella* par les agrumes pendant la deuxième et la troisième poussée de sève et leurs indisponibilités favorisent sa répulsion au printemps. Ces variations saisonnières dans le contenu des composés phénoliques sont donc attribuables entre autres aux conditions de la lumière et de la température (Riga et al., 2008).

Il est important de signaler que malgré ces résultats probants, ils restent préliminaires et nécessitent des confirmations sur des échantillons prélevés aux mois de mai et juin, lorsque les températures sont plus favorables.

D'un autre côté, il laisse penser, probablement, au phénomène de détoxification. Ehrlich et Raven (1964) ont rapporté que lors du processus de co-évolution, les insectes ont développé une stratégie de détoxification de certaines substances qui d'origine agissent comme inhibiteur de la prise alimentaire, éventuellement les mêmes composés dissuasifs deviennent attractants. Ainsi, seuls les insectes ayant une membrane péritrophique absorbante sont capables d'éviter l'effet toxique des composés phénoliques (Karowe, 1989 ; Barbehenn, 2001).

Finalement, et sans outrepasser la période des pousses rebelles, l'analyse phytochimique a révélé une abondance du carbone, un équilibre C/N proche de celui de la deuxième poussée de sève et une teneur relativement faible en métabolites de défense (composés phénoliques). Cette mixture riche en métabolites nutritionnels et pauvre en composés antinutritionnels semble être très ressentie par les larves de *P. citrella*. De ce fait, les pousses rebelles constituent donc un pied de cuve pour les contaminations futures.

A cet effet, nous pensons que l'élimination des pousses rebelles, dès leur apparition, peut constituer un moyen de lutte prometteur, et permet de réduire en toute évidence la propagation des adultes de *Phyllocnistis citrella* sur les pousses d'été.

Conclusions et Perspectives

Conclusions et Perspectives

Dans le but d'apporter des éclaircissements sur l'absence de contaminations de *P. citrella* sur les pousses de printemps, des travaux expérimentaux ont été consacrés à l'étude du comportement des larves soumises à des traitements aux extraits phénoliques bruts issus des feuilles de la première poussée de sève et à l'investigation de la qualité chimique du feuillage des deux espèces agrumicoles.

L'expérience entreprise au laboratoire en conditions semi-contrôlées a permis de montrer que les réponses comportementales des larves ont été conditionnées par la méthode de traitement appliquée et l'espèce considérée.

Les données enregistrées sur la mortalité et la prise alimentaire montrent que les deux méthodes ont réagi différemment. C'est ainsi que les différentes larves ont répondu rapidement lorsqu'elles ont été traitées par la voie d'irrigation, cette dernière a engendré une forte mortalité 6h seulement après l'intervention, contrairement à la méthode dite par pulvérisation dont les effets ont été pratiquement nuls durant les premières heures. Les mortalités cumulées dépendaient également de la durée d'exposition des larves aux composés phénoliques, les données les plus importantes ont été observées 72h après. Ceci a été valable particulièrement à la méthode de pulvérisation. Alors que, comparativement, sur clémentiniers, la réaction a été plus remarquable en raison de la concentration élevée des composés phénoliques additionnée. De même, la réponse des larves diffère en fonction de leur âges ; les larves de troisième âge des orangers se sont révélées être moins sensibles.

L'effet de l'adjonction des composés phénoliques a engendré un arrêt de prise de nourriture. Cette inhibition de la prise alimentaire, particulièrement observée au début des observations, est très discernable sur les larves de différents stades, ayant subi des applications par irrigation. L'incapacité de se nourrir a changé le comportement des larves de troisième stade sur orangers, une accélération de leur évolution au stade prénymphe et par conséquent une atrophie de l'appareil buccal (évolution physiologique naturelle) ne leur permettant pas de se nourrir.

Dans une seconde étape, L'étude phytochimique a permis de mettre en exergue le rôle important que joue la qualité nutritive des jeunes feuilles d'agrumes sur l'attraction des adultes de *Phyllocnistis citrella*.

Les résultats obtenus indiquent, chez les deux espèces étudiées, que la teneur des éléments nutritifs (estimés par le dosage du carbone et de l'azote) détectés sur le feuillage de la plante hôte sont sous l'influence des conditions de la saison et de la date des prélèvements. Il est observé que les feuilles accumulent un taux minimal de carbone durant la première poussée de sève. De même,

ces pousses se sont caractérisées par une disponibilité relativement forte en azote par rapport aux autres pousses (hormis la période indiquant la fin du cycle). En outre, le rapport C/N s'est avéré moins important durant la première poussée de sève coïncidant avec une activité nulle du phytophage.

La disponibilité du carbone et des autres nutriments, exprimés par le rapport C/N, pour la plante est considéré comme facteur déterminant de la production de composés phénoliques. En effet, les variations saisonnières du climat et de la phase de développement de la plante modifient nettement leurs teneurs et influencent leurs diversités. Les pousses d'été, présentant des disponibilités en carbone plus élevées, ce qui permet la synthèse accrue par la plante de métabolites secondaires à base de carbone (composés phénoliques).

Il est donc clair que l'infestation de *P. citrella* dépend de la balance entre les paramètres nutritionnels (métabolites primaires) et ceux antinutritionnels (métabolites secondaires). Le faible niveau nutritionnel (C/N) observé sur les pousses de printemps semble constituer un moyen de défense par la plante. Alors qu'en été et malgré le taux élevé en composés phénoliques, la disponibilité de nutriments agit positivement sur l'amélioration de la qualité alimentaire de la sève, permettant à l'insecte de s'installer. Cette conclusion est nettement justifiée par la qualité des pousses rebelles ; moins de phénols avec abondance de métabolites primaires permettent à l'insecte de se propager rapidement.

Généralement, les traitements effectués sur les feuilles minées par les larves de *P. Citrella* ont conduit certainement à une modification de la qualité nutritive de la sève. Celle-ci étant défavorable pour la survie des larves, justifie leur crainte d'oviposition sur les pousses de printemps.

L'étude de la relation entre la mineuse des feuilles d'agrumes et son hôte en se basant sur les taux de contamination est peut être insuffisant pour comprendre le phénomène. Afin d'apporter des clarifications, il faut savoir ce qui se passe durant le processus alimentaire de l'insecte et cela au cours des différents stades de développement des larves.

Ce présent travail, ouvre de nouvelles perspectives de recherches permettant d'expliquer la relation qui semble exister entre *Phyllocnistis citrella* et la qualité du substrat d'oviposition. Pour ce faire il serait donc nécessaire d'orienter les investigations vers :

✚ l'étude des exigences nutritionnelles, *in vitro*, afin de comprendre la préférence alimentaire de l'insecte. Les travaux porteront, essentiellement, sur la détermination de la nature des acides aminés et/ou les sucres indispensables à la croissance et le développement du phytophage ;

✚ l'étude du phénomène de détoxification, s'il a lieu, permet de montrer le rôle important que jouent les enzymes responsables dans la résistance de l'insecte contre ces métabolites secondaires ;

✚ l'étude du mécanisme de la métamorphose larvaire sous une nourriture qualitativement déséquilibrée ;

✚ la détermination des conséquences morphologiques et physiologiques des prénymphe, nymphe et adulte suite à l'évolution prématurée de larves de troisième stade.

Références bibliographiques

Annexes

---Références bibliographiques---

- Abou-Zaid, M.M., Beninger, C.W., Arnason, J.T. and Nozzolillo, C. 1993.** The effect of one flavanone, two catechins and four flavanols on mortality and growth of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hubner). *Biochemical Systematic and Ecology*, **21** : 415-420.
- Akao, S., Tsukahara, S., Hisada, H. and Ono, S. 1981.** Contribution of photosynthetic assimilates to development of flower and spring flush in *Citrus unshiu* Marc. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* **50** : 1-9.
- Akhtar, Y. and Isman, B. M. 2004.** Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *J. Appl. Ent.* **128** : 32-38.
- Albert, P.J. and Parisella, S. 1988.** Feeding preferences of eastern spruce budworm larvae in two-choice tests with extracts of mixture foliage and with pure amino acids. *J. Chem. Ecol.* **14** : 1649-1656.
- Al-Khateeb, N., Raies, A., Gazal, K., Shamseen, F. et Kattab, S. 1999.** Etude du dynamisme de la mineuse des feuilles d'agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton et l'activité de ses parasitoïdes. *Journal Arabe de Protection des Plantes*. Vol. 17 n° 2.
- Alva, AK., Paramasivam, S., Fares, A., Obreza, T.A. and Schumann, A.W. 2006.** Nitrogen best management practice for citrus trees II. Nitrogen fate, transport and components of N budget. *Scientia Horticulture*, **109** : 223-233.
- Amiri-Besheli, B. 2008.** Efficacy of *Bacillus thurigiensis*, Mineral Oil, Insecticidal Emulsion and Insecticidal Gel Against *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Plant Protection Sci.* **44** (2) : 68-73.
- Amiri-Besheli, B. 2009.** Toxicity evaluation of Tracer, Palizin, Sirinol, Runner and Tondexir with and without mineral oils on *Phyllocnistis citrella* Stainton. *African Journal of Biotechnology*, **8** (14) : 3382-3386.
- Amiri-Besheli, B. 2010.** Efficacy of chlorpyrifos-methyl, methoxyfenozide, spinosad, insecticidal gel, insecticidal soap and mineral oil on citrus leafminer. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, **8** (2) : 668-671 .
- Anonyme, 1987.** Spécial agrumes : Conduite d'un verger, guide technique. Institut technique de développement de l'arboriculture fruitière. Institut national de la protection des végétaux. Tome 2. éd. CNP. pp 60.
- Anonyme, 1993.** Diary Valy. Agenda agricole. 1993 – 1994.
- Anonyme, 1998.** Séminaire du C.L.A.M. sur la mineuse des feuilles des agrumes (Citrus leafminer - *Phyllocnistis citrella*). Moncada (ES). 1996 – 03 – 11/13. 73pp.
- Aoki, T., Akashi, T. and Ayabe, S. 2000.** Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *J. Plant Res.* **113**: 475-488.

- Argolo, P.S., Banyuls, N., Santiago, S., Mollá, Ó., Josep, A., Jacas, J.A. and Urbaneja, A. 2013.** Compatibility of *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) with imidacloprid to manage clementine nursery pests. *Crop. Protection*, **43** : 175–182.
- Argove, Y., and Rösler, Y. 1996.** Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of *Citrus* leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. *Phytoparasitica*, **1** : 33–38.
- Argove, Y., Rösler, Y. and Rosen, D. 1995.** Estado y perspectivas el control del minador de las hojas de los citricos en Israel, *Phytoma*, **72** : 146–148.
- Association of Official Analyst Chemists. 1996.** ‘APAC’, ‘Official Method of Analysis’, 952.08.
- Ateyyat, M.A. et Mustapha, T.M. 2001.** Cultural control of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae) on lemon in Jordan. *International journal of pest management*, **47** : 285-288.
- Aubert, B. 1992.** *Citrus* greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, **2** : 817–820.
- Awmack, C.S. and Leather, S.R. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, **47** : 817 - 844.
- Ba-Angood, S.A.S. 1977.** A contribution to the biology and occurrence of the *Citrus* leafminer. *Phyllocnistis citrella* Staiton. (Lepidoptera : Gracillariidae) in the Sudan. *Z. Ang. Ent.* **83** : 106–111.
- Ba-angood, S.A.S. 1978.** On the biology and food preference of the CLM *Phyllocnistis citrella* Stainton PDR of Yemen. *Z. Ang. Ent.* **86** : 53-57.
- Badawy, A. 1969.** The morphology and biology of *Phyllocnistis citrella* Staiton, a *Citrus* leafminer in the Sudan (Lepidoptera : Gracillariidae). *Bull. Ent. Soc. Egypt* (Cairo), **51**: 95-103.
- Bailey, G., Carden, M. and Clarke, P. 2006.** Mythologie : mythes et légendes du monde entier (de Lodi ed.). Paris.
- Balachowsky, A.S. 1966.** Entomologie appliquée à l’agriculture. Lépidoptères, Tome II, volume I. 330-333.
- Barbehenn, R.V. 2001.** Roles of peritrophic membranes in protecting herbivorous insects from ingested plant allelochemicals. *Archives of insect biotechnology and Physiology*, **47** : 86–99.
- Barkley, N.A., Roose, M.L., Krueger, R.R., and Federici, C.T. 2006.** Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theor. Appl. Genet.* **112** : 1519-1531.

- Barouga, S.F. 1968.** Biological notes and control of *Citrus* leafminer (*Phyllocnistis citrella* Stainton) Affecting *Citrus* seedling. *J. Plant Ind.* (Manilla). **33** : 17–29.
- Basler, A. 2000.** Etude sectorielle sur l'arboriculture et la viticulture en Algérie : Rapport partiel sur l'environnement international pour le développement de l'arboriculture en Algérie. pp 77.
- Belajová, E. et Suhaj, M. 2004.** Determination of phenolic constituents in *Citrus* juices: Method of high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, **86**: 339-343.
- Beninger, W.C, Abou-zaid, M.M., Kistner, E.L.A., Halett, H.R., Iqbal, J.M., Grodzinski B. and Hall, C.J. 2004.** A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology*, **3** : 589-606.
- Berenbaum, M.R. 1995.** The chemistry of defense: theory and practice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92** : 2-8.
- Berger, C. 2002a.** Fiche conseil : *Citrus clementina*. www.Plantesdusud.com.
- Berger, C. 2002b.** Fiche conseil : *Citrus aurantium*. www.Plantesdusud.com.
- Berger, C. 2003.** Fiche conseil : *Citrus sinensis*. www.Plantesdusud.com.
- Berger, C. 2004.** Fiche conseil : *Citrus sinensis*. www.Plantesdusud.com.
- Berkani, A. 1995.** Apparition en Algérie de *Phyllocnistis citrella* Staiton, chenille mineuse nuisible aux agrumes. *Fruits*, **50**, 5 : 347-352.
- Berkani, A. 2003.** Étude morphométrique des stades préimaginaux de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) en Algérie. *Fruits*, **58** : 83–88.
- Berkani, A. et Mouats, A. 1998.** Vers une lutte biologique de *Phyllocnistis citrella* par introduction de *Ageniaspis citricola* en vergers d'agrumes dans l'ouest algériens. *Fruits*, **53** : 97-101.
- Berkani, A., Mouats, A. et Dridi, B. 1996.** Observation sur la dynamique des populations de *Phyllocnistis citrella* Staiton (Lépidoptera : Gracillariidae) en Algérie. *Fruits*, **51** : 417-424.
- Bermúdez, C.E., Martinez, B.N., Graziano, V.J., Bernal, A.H.C. and Panigua, H.A. 2004.** *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Gracillariidae) and its parasitoids in *Citrus* in Ecuador. *Florida Entomologist*, **87** (1) : 10–17.
- Bernays, E.A. and Chapman, R.F. 1994.** Host-plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall, New York.
- Bernays, E.A. and Chapman, R.F. 2000.** Plant secondary compounds and grasshoppers: beyond plant defences. *J. Chem. Ecol.* **26** : 1773–1794.
- Bernays, E.A., Oppenheim, S., Chapman, R.F., Kwon, H., and Gould, F. 1991.** Taste sensitivity of insect herbivores to deterrents is greater in specialists than in generalists: a

- behavioural test of the hypothesis with two closely related caterpillars. *J. Chem. Ecol.* **26** : 547–563.
- Bernet, G.P., Margaix, C., Jacas, J., Carbonell, E.A. and Arnis, M.J. 2005.** Genetic analysis of citrus leafminer susceptibility. *Theoretical and Applied Genetics*, **110** : 1393-1400.
- Blaney, W. M. and Simmonds, M. S. J., 1983.** Electrophysiological Activity in Insects in Response to Antifeedants. COPR report Project 9; Overseas Development Organisation, London, UK.
- Boualem, M., Villemant, C. and Berkani, A. 2007.** Présence en Algérie de trois nouveaux parasitoïdes (Hymenoptera, Eulophidae) de la Mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera ; Gracillariidae). *Bulletin de la Société Entomologique, France*, **112** : 381-386.
- Boudet, A.M. 2000.** L'usine chimique. 9^{ème} conférence de l'université de tous les savoirs. France. p1 - 16.
- Boulahia, K.S., Jerraya, A. and Zaidi, H. 1996.** Essai de traitements chimiques contre la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella*. *Fruits*, **51** : 223-228.
- Boulahia, K.S., Jerraya, A., et Jrad, F. 2002.** Etude de la mineuse des agrumes *phyllocnistis citrella* Stainton (Lep. gracillariidae) dans la région du cap bon (Tunisie). *Fruits*, **57** (01) : 29-42.
- Brenes-Arguedas, T., Horton, M.W., Coley, P.D., Lokvam, J., Waddell, R.A., Meizosa-O'Meara, B.E. and Cursar, T.A. 2006.** Contrasting mechanisms of secondary metabolite accumulation during leaf development in two tropical tree species with different leaf expansion strategies. *Oecologia*, **149** : 91–100.
- Brun, P. et Borelli, J.G. 1995.** Présence en France d'un nouveau ravageur : la mineuse des feuilles d'agrumes, *Phyllocnistis citrella* Staint. (Lepidoptera : Gracillariidae). Symposium Méditerranéen sur Mandariniers. SRA – San Giuliano. Corse. France. Session 5, défense des cultures –lute intégrée/Crop. Protection.
- Bruneton, J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales (3^{ème} éd.), Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- Bruneton, J. 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Ed. TEC & DOC, Paris, 445-453.
- Bryant, J.P., Chapin, F.S. and Klein, D.R. 1983.** Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, **40** : 357 - 368.
- Brzowska, J., Hanower, P. et Tanguy, J. 1971.** Polyphénols des feuilles de cotonniers et influence sur leur composition d'un choc hydrique et nutritionnel. *Phytochemistry*, **12** : 2353-2357.
- Buer, C.S., Gloria K.M. and Djordjevic, M.A. 2007.** Flavonoids Are Differentially Taken Up and Transported Long Distances in Arabidopsis. *Plant Physiology*, **145** : 478–490.

- Calabró, M.L., Galtieri, V., Cutroneo, P., Tommasini, S., Ficarra, P. and Ficarra, R. 2004.** Study of extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in *Citrus bergamia* juice. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **35**: 349-363.
- Campbell, A.T. et Grasse, A.K. 1986.** Effects of stage of development on chemical yields in common milk weed. *Asclepias syriaca. biomass*, **9** : 239-246.
- Campos, Y., Iveda, B.S. and Tume, P. 2007.** Entomopathogenicity of native bacteria from *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* against the pest *Phyllocnistis citrella*. *Pest Manag Sci.* **63**:394–398.
- Cassin, J., Bourdeaut, B., Gougue, F., Furin, V., Gaillard, J. P., Le Bourdelles, J., Montigut, C. and Monevil, C. 1969.** The influence of climate upon the blooming of citrus in tropical areas. In *Proc. 1st Int. Citrus Symp.*, Vol. I, ed. H. D. Chapman, pp. 315-23. Riverside, California : University of California.
- Chagas, C.M.M., Pra, R.P.J., Namekata, T., Hartung, S.J., and Yamamoto, T.P. 2001.** Ecology, behavior and bionomics: *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae) and its relation with the *Citrus canker* Bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* in Brazil. *Neotropical Entomology*. **30** (1) : 55-59.
- Chapman, R.F. 2003.** Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, **48** : 455–484.
- Chavan, U.D., Shahidi, F. and Naczk, M. 2001.** Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvent. *Food chemistry*, **75** : 509-512.
- Chermi, C.B., Braham, M., Znaidi, M., Gahbiche, H., Messelmani, B., Dali M. and Messelmani, H. 2001.** Premiers résultats sur l'acclimatation d'*Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hym., Encyrtidae), parasitoïde spécifique de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep., Gracillariidae), en Tunisie. *Journal of Applied Entomology*, **125** : 45-52.
- Chinapongtitiwat, V., Jongaroontaprangsee, S., Chiewchan N. and Devahastin, S. 2013.** Important flavonoids and limonin in selected Thai citrus residues. *Journal of Functional Foods*. Article in press.
- Clausen, C.P. 1931.** Two citrus leafminers of the Far East. U.S. Dep. Agric, Tech. Bull. 252.
- Cloyd, R.A. 2004.** Natural indeed are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? *Pesticide Review*, vol. **17** n° 3.
- Cook, N.C. and Samman, S. 1996.** Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, **7**: 66-76.
- Crozier, A. Clifford, M. and Ashihara, H. 2006.** Plant secondary metabolites: occurrence structure and role in the human diet. Oxford, U.K. : Blackwell Publishing Ltd. 384p.

- David, J.P., Rey D., Pautou, M.P. and Meyran, J.C. 2000.** Differential toxicity of leaf litter to Dipteran larvae of mosquito developmental sites. *J. Invertebr. Pathol.* **75** : 9–18.
- Deng, Z.N., Xu, L., Li, D.Z., Long, G.Y., Liu, L.P., Fang, F. and Shu, G.P. 2010.** Screening citrus genotypes for resistance to canker disease (*Xanthomonas axonopodis* pv. citri). *Plant Breeding*, **129** : 341-345.
- Dewick, M.P. 2002.** Medicinal natural products: A biosynthetic approach. Copyright John Wiley and Sons, Ltd. ISBN/0471496405. 2nd edition. pp515.
- Díaz, M.E., Fernández, M., Ávila, O., Pérez, J., García, L.E., et Cobas, B. 2006.** Comportamiento poblacional de *Phyllocnistis citrella* STAINTON (Lepidoptera : Gracillariidae) en ivero de cítricos de la Isla de la Juventud. *Rev. Protección Veg.* **21** (1) : 27-30.
- Dixon, A.F.G. 1985.** Structure of aphid populations. *Annu. Rev. Entomol.* **30** : 155-174.
- Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995.** Stress induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell.* **7** : 2801-2808.
- Dixon, R.A., Xie, D.Y and Sharma, S.B. 2004.** Protocyanidins- a final frontier in flavonoid research ?. *New phytologist*, **165**: 9–28.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, **97**: 654–660.
- Djobbikoi, J. et Fuzeau-Braesch, S. 1979.** Sensibilité phasaire de *locusta migratoria* aux résidus d'un insecticide, le Lindane, issue de semences de blé traité. *Phytiatri-phytopharmacie*, **28** : 185-192.
- Donner, H. 1997.** The Anthocyanins of red onions, *Allium cepa* L.: Extraction, characterization, complexation and stabilization. Université de Manitoba. Grade: Master of science. Pp202. Canada.
- Douaho, K., Kershoas, L. et Fuzeau-Braesch, S. 1982.** Mécanisme de la sensibilité au Lindane chez le criquet migrateur, *locusta migratoria* L. *Agronomie*, **2(9)** : 895-900.
- Doumbia, L. 1994.** Les effets de *Melia azedarach* sur les larves du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). *Rev. Sahel PV Info*, **60**, pp 2-10.
- Dridi, B. et Berkani, A. 1996.** Etat actuel des infestations des agrumes en Algérie par *Phyllocnistis citrella*, in EPPO, Workshop on *Phyllocnistis citrella* (*Citrus* leafminer) and its control. Agadir, Maroc, 1994. 4p.
- Dugravot, S. 2004.** Les composés secondaires soufrés des *allium* : rôle dans les systèmes de défense du poireau et actions sur la biologie des insectes. Thèse de doctorat. Université de Tours (France). pp172.
- Dykes, L. and Rooney L.W. 2006.** Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, **44** : 236–251.

- Ehrlich, P.R. and Raven, P.H. 1964.** Butterflies and plants : a study in coevolution. *Evolution*, **18** : 586-608.
- Elhag, A.E. 2000.** Deterrent effects of some botanical products on oviposition of the cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : bruchidae). *International journal of pest Management*, **46** (2) : 109–113.
- Elnadi, A.H., Elhag, A.E., Zaitoon, A.A. and Al doghatri, A.M. 2001.** Toxicity of three plants extracts to *Trogoderma granarium* evert (Coleoptera : Dermestidae). *Pakistan Journal of Biological Science*, **4** (12) : 1503-1505.
- El-Otmani, M. 2005.** Transfert de technologie en agriculture : les agrumes, le maraîchage et le froid hivernal. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, n° 127.
- Erlund, I. 2002.** Chemical analysis and pharmacokinetics of the flavonoids Quercetin, Hesperedin and Naringenin in humans. These de doctorat, pp92. Université de Helsinki.
- Ezeonu, C.F., Chidume, I.G. and Udedi, C.S. 2001.** Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. *Bioressources Technology*, **76** : 273-274.
- Fawe, A. 1997.** Etude du mode d'action du silicium dans l'accroissement du concombreau blanc poudreux: Intervention de composés à activité antifongiques et identification. Thèse de doctorat. pp109. Université Laval. Québec (Canada).
- Fillip, V., Dirzo, R., MaAss, J.M. and Sarukhán, J. 1995.** Within- and among year variation in the levels of herbivory on the foliage of trees from Mexican tropical deciduous forest. *Biotropica*, **27** : 78-86.
- Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. and Macheix, J.J. 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, pp121-216.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2012.** Guide conçu grâce au financement de la FAO – Algérie. Regional Integrated Pest Management Programme in the Near East / GTFS/REM/070/ITA.
- Forkner, R.E., Marquis, R.J. and Lill, J.T. 2004.** Feeny revisited : condensed tannins as antiherbivore defences in leaf-chewing herbivore communities of *Quercus*. *Ecological entomology*, **29** : 174-187.
- Fritch, H. and Griesbach, H. 1975.** Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem.* **14**: 2437 - 42.
- Furlan, C.M., Salatino, A. and Domingos, M. 1999.** Leaf content of nitrogen and phenolic compounds and their bearing with the herbivory damage to *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae), under the influence of air pollutants from industries of Cubatão, São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, **22** : 317-323.

- Garcia-Mari, F., Granda, C., Zaragoza, S. and Agusti, M. 2002.** Impact of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) on Leaf Area Development and Yield of Mature Citrus Trees in the Mediterranean Area. *J. Econ. Entomol.* **95** (5) : 966-974.
- Garrido, A. and Gascón, I. 1995.** Distribution de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton según el tamaño de la hoja. *Bol. San. Veg. plagas.* **21** : 559–571.
- Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U. and Caristi, C. 2007.** Flavonoid Composition of *Citrus* Juices. *Molecules*, **12** : 1641-1673.
- Gee, J.M. and Johnson, I.T. 2001.** Polyphenolic compounds : interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*, **8** : 1-182.
- Gifford, R.M., Thorne, J.H., Hitz, W.D. and Giaquinta R.T. 1984.** Crop productivity and photoassimilate partitioning. *Science*, **225** : 801-808.
- Gilomee, J.H. and Millar, I.M. 2009.** The Woolly Whitefly, *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Hemiptera: Aleyrodidae), a Potentially Serious *Citrus* Pest, Recorded from South Africa. *African Entomology*, **17**(2) : 232-233.
- Gitz, D.C., Liu, L. and McClure, J.W. 1998.** Phenolic metabolism, growth and UV-B tolerance in phenylalanine ammonia-lyase inhibited red cabbage seedlings. *Phytochemistry*, **49**: 377-386.
- Godfrey, K. and Grafton-Cardwell, B. 2002.** *Citrus* Leafminer in California *Citrus*. Biological Control Program, CDFA, Sacramento. Dept. of Entomology, UC Riverside, stationed at Agricultural center, Parlier.
- Goldschmidt, E.E. and Golomb, A. 1982.** The carbohydrate balance of alternate-bearing *Citrus* trees and the significance of reserves for flowering and fruiting. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* **107** : 206–208.
- Goldschmidt, E.E. and Koch, K.E. 1996.** *Citrus*. In: Zamski, E., Schaffer, A.A. (Eds.), Photoassimilate Distribution in Plants and Crops. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 797–823.
- Gorinstein, S., Belloso, O.M., Parck, Y.S., Haruenkit, R., Lojeck, A., Ciz, M., Capsi, A., Libman, I.S. and Rakhtenberg, T. 2001.** Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, **74**: 309-315.
- Gorinstein, S., Cvikrovà, M., Machachova, I., Haruenkit, R., Park, Y. S., Jung, S.T., Yamamoto, K., Ayala, A.L.M., Katrich, E. and Trakhtenberg, S. 2004b.** Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweets and white grapefruits. *Food Chemistry*, **84**: 503-510.
- Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Katrich, E., Pawelzik, E., Haruenkit, R., Trakhtenberg, S. and Belloso, O.M. 2004a.** Comparison of the contents of the main antioxidant activity of white grapefruit and his new hybrid. *Lebensm-Wiss. U.- Technol.* **37**: 337-343.
- Gottwald, T. R., Hughes, G., Graham, J. H., Sun, X. and Riley, T. 2001.** The Citrus canker epidemic in Florida. The scientific basic of regulatory eradication policy for an invasive species. *Phytopathology*, **91** : 30–34.

- Grafton-Cardwell, E., Godfrey, K.E., Headrick, D.H., Mauk P.A. and Peña, J.E. 2008.** *Citrus* Leafminer and *Citrus* Peelminer. ANR8321. ISBN-13:978-1-60107-565-9.
- Green, P.W.C., Stevenson, P.C, Simmonds, M.S.J. and Sharma, H.C. 2002.** Can larvae of the pod-borer, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae), select between wild and cultivated pigeonpea (*Cajanus sp.* (Fabaceae))? *Bull. Entomol. Res.* **92** : 45 – 51.
- Grundhofer, P., Niemetz, Schiling, R.G. and Grosse, G. 2001.** Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolysable tannins. *Phytochemistry.* **57**: 951-927.
- Guerrout, R. 1974.** Apparition de *Phyllocnistis citrella* Stainton en Afrique de l'ouest. *Fruit*, **29** (7-8) : 519–523.
- Guignard, J.L. 1996.** Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, 160 p.
- Häittenschwiler, S. and Vitousek, M.P. 2000.** The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. PII : S0169-5347(00)01861-9. *Tree vol.* **15**, n° 6.
- Hamilton, J.G., Zangerl, A.R., Deluda, E.H. and Berrenbaum, M.R. 2000.** The carbon-nutrient balance hypothesis; its rise and fall. *Ecology letters* 3: 0-000.Paper 192 Disc.
- Harborne, J.B. 1993.** *Introduction to chemical ecology*, 4ème édition, Academic press, London, 317 p.
- Haribal, M. and Renwick, A.A. 1996.** Oviposition stimulants for the monarch butterfly: Flavonol glycosides from *Asclepias curassavica*. *Phytochemistry*, **41** : 139 - 144.
- Harper, J.L. 1989.** The value of a leaf. *Oecologia*, **80** : 53–58.
- Heard, T.A. and Winterton, S.L. 2000.** Interactions between nutrient status and weevil herbivory in the biological control of water hyacinth. *J. Appl. Ecol.* 37:117-127.
- Hedges, J. I. 1993.** Comparative analyses of dissolved organic carbon and nitrogen in natural waters. *Mar. Chem.* **41**(1-3), 121 - 134.
- Heimeur, N., Idrissi, L. et Serghini, M.A. 2004.** Les polyphénols de *Pyrus mamorensis* (Rosaceae). *The moroccan society of Biology in Canada*, **3** (1) : 37-42.
- Heller, R., Esmault, R. et Lance, C. 1998.** *Physiologie Végétale*. 6ème édition. Dunod, Paris. p290.
- Heppner, J.B. 1993.** Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* , in Florida (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) . *Tropical Lepidoptera* , **4** :49–64 .
- Herms, D.A. and Mattson, W.J. 1992.** The dilemma of plants ; to grow or defend. *Quarterly Rev. Biol.* **67** :283-335.

- Hilbert, G.M.P. 2002.** Effets de la azoté et du stress hydrique sur la maturation et la composition en anthocyanes des baies de *Vitis vinifera* L. au vignoble et en conditions contrôlées. Thèse de doctorat. Université Victor Segalan, Bordeaux. France, pp190.
- Ho, H.S., Wang, J., Sim, Y.K., Ee, L.C.G., Imiyabir, Z., Yap, F.K., Shaari, K. and Goh, S.H. 2003.** Meliternatin a feeding deterrent and larvicidal polyoxygenated flavone from *Melicope subunifoliata*. *Phytochemistry*, **62** : 1121-1124.
- Hoffmann, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C., Pollet, B. et Legrand, M. 2004.** Silencing of hydroxycinnamoyl coenzyme A shikimate / quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. **16** (6) : 1446-1465.
- Hollman, P.C.H. 2001.** Evidence for health benefits of plant phenols : local or systemic effects?. *J. Sci. Food Agric.* **81**: 842-852.
- Horowitz, R., and Gentili, B. 1977.** Flavonoids constituents of *citrus*. In S. Nagy, P. E. Shaw, & M. K. Vedhuis (Eds.), *Citrus science and technology* (pp. 397–426). Westport, CT: AVI Publishing.
- Hoy, M.A. and Nguyen, R. 1994.** Classical biological control of the citrus leafminer in Florida: a progress report. *Citrus Industry*. June: 61–62.
- Huang, M.D., Dheng, C.X., Li, S.X., Mai, X.H., Tan W.C., and Szetu, J. 1989.** Studies on population dynamics and control strategy of the *Citrus* leafminer. *Acta Entomologica Sinica*, **32** : (1) : 58-67.
- Jacas, J. A., Garrido, A., Margaix, C., Forner, J., Alcaide, A. and Pina , J.A. 1997.** Screening of citrus rootstocks and citrus-related species for resistance to *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Crop Protection*, **16** : 701–705.
- Jacas, J.A. and Garrido, A. 1996.** Difference in the morphology of male and female pupae of *Phyllocnistis citrella* Saiton (Lepidoptera : Gracillariidae). *Florida Entomologist*, (603) : vol. 79 n° 4.
- Jacobson, M. 1989.** Botanical pesticides, past present and future *In* Arnason JT. *et al.* (Ed.). *Insecticides of plant origin*. Washington, D.C. : American Chemical Society Symposium, series 387, p. 1-10.
- Jarraya, A.,S. Boulahia K., Jrad, F. et Fezzani, M. 1997.** La mineuse des agrumes en Tunisie : bio-écologie et méthodes de lutte. Document technique, 20 pp.
- Jean-françois, 2004.** Les agrumes. Dossier Plantymag n° 32.
- Jhonson, W.A., Snook, E.M. and Wiseman, R.B. 2002.** Green leaf chemistry of various turfgrasses: Differentiation and resistance to fall armyworm. *Crop Science*, **42** : 2004-2010.
- Joern, A. and Behmer, S.T. 1998.** Impact of diet on quality on demographic attributes in adult grasshoppers and the nitrogen limitation hypothesis. *Ecological Entomology*, **23** : 174-184.

- Karowe, D.N. 1989.** Differential effect of tannic acid on two tree-feeding Lepidoptera : implications for theories of plant antiherbivore chemistry. *Oecologia*, **80** : 507 - 512.
- Kato, T. 1986.** Nitrogen metabolism and utilization in *Citrus*. *Hortic. Rev.* **8** : 181-2166.
- Kawaii, S., Katase, T.Y., Ogawa, E. and Yano, K.M. 1999.** Quantification of flavonoids constituents in *Citrus* fruits. *J. Agric Food Chem.* **47** : 3565-3571.
- Kawaii, S., Tomoto, Y., Katase, E., Ogawa, K., Nakano, M.N., Nesumi, H., Yoshida, T., Sugiura, M. and Yano, M. 2001.** Quantitative study of the Fruit Flavonoids in Citrus Hybrids of King (*C. nobilis*) and Mukaku Kishu (*C. kinokuni*). *J. Agric. Food Chem.* **49**: 3982-3986.
- Kening, Y. Vincenzo, D.L. et Normand, B. 1995.** Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptability of potato to *Phytophthora infestans*. *The plant cell.* **7** : 1787-1799.
- Kharrat, S. et Jarraya, A. 2005.** Lien entre la préférence d'oviposition et la performance subséquente des larves chez la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton [Lepidoptera : Gracillariidae]. *Phytoprotection*, **86** : 25-29.
- Kim, D-O., Lee, K.W., Lee H.J. and Lee, C.Y. 2002.** Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *J. Agric. Food Chem*, **50** : 3713-3717.
- Kim, D-O., Seung W.J. and Lee, C.Y. 2003.** Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, **81** : 321–326.
- Kim, H.P. Son, K.H. Chang, H.W. and Kang, S.S. 2004.** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* **2004**, **96** : 229–245.
- King, A. and Young, G. 1999.** Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Dietetic Assoc.* **99**: 213-218.
- Knapp, J., Peña J., Stansly P., Heppner, J. and Yang, Y. 1994.** The *Citrus* leafminer, *Phyllocnistis citrella*, a new pest of Citrus in Florida. Gainesville, Etats-Unis, Flor. Coop. Ext. Ser., Ifas Univ Fl., 8p.
- Knapp, J.L., Albrigo, L.G., Browing, H.W., Bullock, R.C., Heppner, J.B., Hall ,D.G., Hoy, M.A., Nguyen, R., Pena, J.E. and Stansly, P.A. 1995.** *Citrus* leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton : curent status in Florida Gainesville (Etat –Unis). 35p.
- Knapp, J.L., Bullock, R.C. and Shapiro, J.P. 1996:** Chemical control of the citrus leaf miner: what are the options ? In: Proc. 'Managing the *Citrus* Leaf Miner', Orlando 22-25. April. Ed. by HAY, M. A. Orlando: University of Florida.
- Kouki, M. and Manetas, Y., 2002.** Resource availability affects differentially the levels of gallotannins and condensed tannins in *Ceratonia siliqua*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **30**: 631–639.
- Kraus, T.E.C., Zasoski, R.J. and Dahlgren, R.A. 2004.** Fertility and pH effects on polyphenol and condensed tannin contents in foliage and roots. *Plant and Soil*, **262** (1-2): 95–109.

- Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjlali, B. et Berrada, M. 2001.** Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Research*, **71** : 9–15.
- Lapointe, S.L. and Stelinski, L.L. 2011.** An applicator for high viscosity semiochemical products and intentional treatment gaps for mating disruption of *Phyllocnistis citrella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **141** : 145–153.
- Larka, K.R., Singh, Z. and Kharub, S.W. 1984.** Population dynamics of Citrus leaf-miner *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Phyllocnistidae) in Haryana. *Indian J. Ecol.* Vol. **11** (1) : 146–153.
- Legaspi, J.C. and Frenche, j.V. 1996.** The *Citrus* Leafminer and naturel enemies. Circ B96-1. Texas A&M-Kingsville *Citrus* Center , Weslaco, TX.
- Lesne, B. et Pavageau, R. 1999.** L’histoire des agrumes d’Alexandre le Grand au frère Clément. S. E. V. E de Nantes.
- Lim, M.Z. and Hoy, A.M. 2005.** Biological assessment in quarantine of *Semiolachar petiolatus* (Hymenoptera : Eulophidae) as a potential classical biological control agent of Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae), in Florida. *Biological Control*, **33** : 87-95.
- Lim, U.T. and Hoy, M.A. 2006.** Overwintering of the *citrus* leafminer, *Phyllocnistis citrella* (lepidoptera: Gracillariidae), without diapause in Florida. *Florida entomologist*, **89** (3) : 760-749.
- Lim, U.T., Zappalà, L. and Hoy, A.M. 2006.** Pre-release evaluation of *Semiolachar petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) in quarantine for the control of citrus leafminer: Host discrimination, relative humidity tolerance, and alternative hosts. *Biological Control*, **36** : 65–73.
- Liu, M.Z., Beattie, G., Jiang, L. and Watson, M.D. 1999.** Volumes of petroleum spray oil required for control of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae) in mature citrus orchards. *Australian journal of Entomology*, **38** : 141–144.
- Lo Scalzo, R., Iannocari, T., Summa, C., Morelli, R. and Rapisarda, P. 2004.** Effect of thermal treatments on antioxydant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry*, **85**: 41-47.
- Lo Verde, G., Caleca V. and Lo Verde, V. 2011.** The use of kaolin to control *Ceratitidis capitata* in organic citrus groves. *Bulletin of Insectology*, **64** (1) : 127-134.
- Loussert, R. 1989.** Les agrumes production. Ed. sci. Univ., Vol. 2, Liban, 280p.
- Macheix, J.J., Fleuriot, A. and Billot, J. 1990.** Fruits phenolic acids. Boca Raton, Florida. *CRC Press*, **98** : 163-196.

- Macheix, J.J., Fleuriot, A. et Jay-Allemand, C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.
- Mafi, S.A. and Ohbayashi, N. 2006.** toxicity of insecticides to the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, and its parasitoids, *Chrysocharis pentheus* and *Sympiesis striatipes* (Hymenoptera: Eulophidae). *Applied Entomology and Zoology*, **41**: 33-39.
- Mafi, S.A. et Ohbayashi, N. 2004.** Seasonal prevalence of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae) and its parasitoids in controlled and uncontrolled *Citrus iyo* groves in Ehime Prefecture, Japan. *Appl. Entomol. Zool.* **39** (4) : 597–601.
- Maitra, S. and Ray, A.K. 2003.** Inhibition of digestive enzymes in rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), and fingerlings by tannin: an *in vitro* study. *Aquaculture Research*, **34** : 93-95.
- Malešev, D. et Kuntić, V. 2007.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society.*, **72** (10) : 921-939.
- Manache, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. and Jiménez, L. 2004.** Polyphenols: food and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**: 727-747.
- Masanět, V., Sanz, V.J., Izquierdo, I.J., Puiggros Jové, M.J. 1999.** Imidacloprid : a new strategy for controlling the citrus leaf miner (*Phyllocnistis citrella*) in Spain. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, **52**, 3 : 250–263.
- Manthey, J.A., Grahmann, K., Berhow, M.A. and Tisserat, B. 2000.** Changes in Citrus leaf flavonoids concentrations resulting from blight-induced zinc deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* **38** (4): 333-343.
- Maor, B.P., Lewinshon, E., Fluhr, R. and Gressel, J. 1991.** UDP-rhamnose: Flavanone-7-O-glucoside-2''-O-rhamnosyltransferase. *The journal of Biological Chemistry*, **266** (31): 20953-20959.
- Marfak, A. 2003.** Radiolyse gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. pp199. Université de Limoges.
- Mariau, D. 1999.** Les Maladies des Cultures Pérennes Tropicales (CIRAD ed.).
- Marschner, H. 1995.** Mineral nutrition of higher plants. Academic press London, P.889.
- Martens, S., Knott, J., Seitz, C.A., Janvari, L., Yu, S.N. and Forkmann, G. 2003.** Impact of biochemical pre-studies on specific metabolic engineering strategies of flavonoid biosynthesis in plant tissues. *Biochemical Engineering Journal*, **14**: 227-235.
- Mattos, D.Jr., Graetz, A.D. and Alva, A.K. 2003.** Biomass Distribution and Nitrogen-15 Partitioning in *Citrus* Trees on a Sandy Entisol. *Soil Science Society of America Journal*, **67** : 555 - 563.

- Mattson, W.J. 1980.** Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11** : 119-161.
- Matuschek, E. and Svanberg, U. 2005.** The effect of fruit extracts with polyphenol oxidase (PPO) activity on the in vitro accessibility of iron high-tannin sorghum. *Food Chem.* **90**: 765-771.
- Mauricio, R., Rausher, M.D. and Burdick, D.S. 1997.** Variation in the defense strategies of plants: are resistance and tolerance mutually exclusive? *Ecology*, **78** : 1301-1311.
- Mazza, G. et Miniati, E. 1993.** Small fruits. Anthocyanins in fruits, vegetables, and lirains. CRS pres: 85-130.
- McLaughlin, B.M. 1986.** Performance of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* in relation to dietary and foliar levels of sugar and nitrogen. Thèse de Maîtrise en Sciences, Michigan State University, East Lansing, Michigan.
- Michaud, J.P. and Grant, A.K. 2003.** IPM-compatibility of foliar insecticides for citrus: Indices derived from toxicity to beneficial insects from four orders. *Journal of Insect Science*, **3** :1-8.
- Middleton, E.J.R., Kandaswami, C. and Theoharides, T.C. 2000.** The effects of plant flavonoids on Mammalian cells: Implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* **52**: 673-751.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., and Van Beek, T.A., 2004.** Screening of radicalscavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry* **85**: 231-237.
- Monerri, C., Fortunato-Almeida, A., Molina, R.V., Nebauer, S.G., Garcia-Luis, A. and Guardiola, J.L. 2011.** Relation of carbohydrate reserves with the forthcoming crop, flower formation and photosynthetic rate, in the alternate bearing 'Salustiana' sweet orange (*Citrus sinensis* L.). *Scientia Horticulturae*, **129** : 71–78.
- Moon-Young, C., Chuan, C., Jeong, H.P., Johan, L., Jeongmi, L. and Sung, W.K. 2011.** Effects of storage period and heat treatment on phenolic compound composition in dried Citrus peels (Chenpi) and discrimination of Chenpi with different storage periods through targeted metabolomic study using HPLC-DAD analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **54**: 638–645.
- Moran, N. and Hamilton, W.D. 1980.** Low nutritive quality as defence against herbivores. *Journal of Theoretical Biology*, **86** : 247-254.
- Moreno, J. and Garcia-Martínez, L. 1984.** Nitrogen accumulation in *Citrus* leaves throughout the annual cycle. *Physiol. Plant.* **61** : 429–434.
- Moringuschi, T., Kita, M., Hasegawa, S. and Omoru, M. 2003.** Molecular approach to citrus flavonoid and limonoid biosynthesis. *Food, Agriculture and Environment*, **1**: 22-25.
- Mouly, P., Gaydou, E.M. and Auffray, A. 1998.** Simultaneous separation of flavanone glycosides and polymethoxylated flavones in Citrus juices using liquid chromatography. *Journal of chromatography*, **800**: 171-179.

- Muller-Harvey, I. 2001.** Analysis of hydrolysable tannins. *Anim. Feed Sci. Technol.* **91** : 3-20.
- Munakata, K. 1975.** Insect antifeeding substances in plant leaves. *Pure and Applied Chemistry*, **42** : 57-66.
- Murata, T., Mori, N. and Nishida, R. 2011.** Larval Feeding Stimulants for a Rutaceae-Feeding Swallowtail Butterfly, *Papilio xuthus* L. in *Citrus unshiu* Leaves. *J. Chem. Ecol.* **37** : 1099 – 1109.
- Nagamine, W.T. and Heu, R.A. 2002.** *Citrus* Leafminer : *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae). *New Pest Advisory* n° 00-01.
- Nicolosi, E., Deng, N.Z., Gentile, A., La Malfa, S., Continella, G. and Tribulato, E. 2000.** Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theor. Appl. Genet.* **100** : 1155–1166.
- Niesenbaum, R.A., Cahill Jr., J.F. and Ingersoll, C.M. 2006.** Light, wind, and touch influence leaf chemistry and rates of herbivory in *Apocynum cannabinum* (Apocynaceae). *International Journal of Plant Science*, **167** (5) : 969–978.
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E.L.S., Van Hoorn, D.E.C., Boelens, P.G., Van Norren, K. and Van Leeuwen, P.A.M. 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition.* **14** (4): 418-425.
- Nishida, R., Ohsugi, T., and Fukami, H. 1987.** Oviposition stimulants of a Citrus-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. *Experientia*, **43** : 342 – 344.
- Noseworthy, M.K. and Despland, E. 2006.** How do primary nutrient affect the performance and preference of forest tent caterpillars on trembling aspen? *Can. Entomol.*, **138** : 367-375.
- Ohgushi, T. 1992.** Resource limitation on insect herbivore populations. In: Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Edited by M.D. Hunter, Ohgushi & P.W. Price. *Academic Press Inc.* pp. 199-241.
- Ollitrault, P. et Luro, F. 1997.** L'amélioration des plantes tropicales. In Charrier, A., Michel, J., Serge, H. et Dominique, N. (Eds.), (pp. 13-36): CIRAD.
- Ould El Hadj, M.D., Tankaridan-Badjo, A. et Halouane, F. 2003.** Etude comparative de la toxicité de trois substances sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskål, 1778. (Orthoptera, Cyrtacanthacridinae). *Courrier du Savoir – N°03*, pp. 81-86.
- Ouma, G.B. 2006.** Growth responses of Rough Lemon (*Citrus limon* L.) rootstock seedlings to different container sizes and nitrogen levels. *Agricultura Tropica et subtropica.* **39** (3): 183-189.
- Painter, R.H. 1951.** Insect resistance in crops plants. The University press of Kansas, Lawrence, Kansas, Etats-Unis, 520 p.

- Pandey, N.D. and Pandey, Y.D. 1964.** Bionomics of *Phyllocnistis citrella* Stainton. (*Lepidoptera* : *Gracillariidae*). *Indian j. Entomol.* **26** : 417-423.
- Panzuto, M., Mauffette, Y. and Albert, P.J. 2002.** Developemental, Gustatory and behavioral responses of leafroller larvae, *Chris/oneura rosaceana*, to tannic acid and glucose. *Journal of Chemical Ecology*, **28** : 145-160.
- Pascual-Villalobos, M.J. and Robledo, A. 1998.** Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *Industrial Crops and Products*, vol. **8** (3) : 183–194.
- Pellati, F., Benvenuti, S. and Melegari, M. 2004.** High performance Liquid Chromatography for the Analysis of Adrenergic Amines and Flavanone in Citrus aurantium L. var. amara. *Phytochem. Anal.* **15**: 220-225.
- Peña, J.E. 1997.** Estado actual del control biológico del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton: University of Florida. Tropical Research and Education Center. Homestead, FL. 6 p.
- Peronny, S. 2005.** La perception gustative et la consommation des tannins chez le Maki (*Lemur catta*). Thèse de doctorat. Muséum national d’histoire naturelle. Paris, 154pp.
- Peterson, J., Dwyer, M.S.J. and DSc, RD. 1998.** Flavonoids : Dietary occurrence and Biochemical activity. *Nutrition research*, **18** (12): 1995-2018.
- Piquemal, G. 2008.** Les flavonoïdes. Site web : <http://www.detoursante.com/>
- Pottier-Alapetite, G. 1981.** Flore de la Tunisie. Tome II : pp 1189. Imprimerie officielle de la république Tunisienne.
- Praloran, J.C. 1971.** Les agrumes. Ed. Maisonneuve et Larose. Presse 440. Paris. 565 p. Moss, 1973.
- Price, M.L. and Butler, L.G. 1977.** Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **25** : 1268-1273.
- Raga, A., Satol, M.E., Souza, M.F. and Siloto, R.C. 2001.** Comparison of spray insecticides against citrus leafminer. *Arq. Inst. Biolo.* **68** : 77-82.
- Rajput, A. A., Sarwar, M., Bus, M. and Tofique, M. 2003.** Evaluation of Synthetic and Some Plant Origin Insecticides Against *Holliocoverpa armigera* (Hubner) on Chickpea. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **6** (5) : 196-499.
- Rebour, H. 1966.** Les agrumes, manuel des cultures des *Citrus* pour le bassin. Edition J-B Bailliére et fils. p 28-31.
- Regnault-Roger, C., Ribodeau, M., Hamraoui, A., Bateau, I., Blanchard, P., Isabel, M., Minos, G. and Barberab, T.F. 2004.** Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of oriental effects on *Acanthoscelides obtactus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, **40** : 395-408.

- Reichardt, P.B., Chapin, III F.S., Bryant, J.P., Mattes, B.R. and Clausen. T.P. 1991.** Carbon/Nutrient Balance Does Not Fully Explain Patterns of Plant Defense in Alaskan Balsam Poplar. *Oecologia*, **88**:401-406.
- Rezk, H.A., Gadelhak, G.G. and Shawir, M.S. 1996.** Field evaluation of certain insecticides on the citrus leaf-miner *Phyllocnistis citrella* Stainton, (Lepidoptera: Gracillariidae: pyllocnistinae) in North Tahrir area. *Alexandria J. Agric. Res.* **1**: 151-161.
- Rhoades, D.F. 1979.** In: Herbivores: Their interaction with secondary Plant Metabolites. Rosenthal, G., Janzen, D. (Eds), Academic, New York, 3-54.
- Richter, G. 1993.** Métabolisme des végétaux : Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires. ISBN. 2-88074-231-5. Pp525.
- Riga, P., Anza M. and Garbisu, C. 2008.** Tomato quality is more dependent on temperature than on photosynthetically active radiation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **88** : 156-166.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Garcia, P.C., Lòpez-Lefebvre, L.R., Sánchez, E. and Romero, L. 2001.** Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*, **160** : 315-321.
- Rocca Serra, D. et Ollitrault, P. 1992.** Les ressources génétiques chez les agrumes. Station de recherche agronomique INRA – IRFA.
- Rousseaux, M.C., Ballarés, C.L., Scopel, A.L., Searles, P.S. and Caldwell, M.M. 1998.** Solar ultraviolet-B radiation affects plant-insect interactions in natural ecosystem of Tierra del Fuego (South Argentina). *Oecologia*. **116**: 528-535.
- Sanchez, J., Cermeli, M. and Morales, P. 2002.** Ciclo biologico del minador de la hoja de los citricos *Phyllocnistis citrella* Staiton (Lepidoptera : Phyllocnistidae) en naranja (*Citrus sinensis* (L) Osbeck). *Entomotropica*, Vol. **17** (2) : 167-172.
- Sandhu, G.S. and Batra, R.C. 1978.** Sources of resistance as observed under field infestation against citrus leafminer. *Science and Culture*, **44** : 122-124.
- Santos, M.S., Vendramim J.D., Lourenção, A.L., Pitta, R.M. and Martinus, E.S. 2011.** Resistance of citrus genotypes to *Phyllocnitis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Neotrop. Entomol*, **40** : 489-494.
- Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Lavoisier. p2- 10.
- Sauer, M.R. 1951.** Growth of orange shoots. *Australian Journal of Agricultural Research*, **2** : 105-117.
- Sauvant, D. 1988.** La composition et l'analyse des aliments. In : Jarrige R (ed), alimentation des Bovins, ovin et Carpin, 305 - 314. INRA Paris.

- Scarr, T. 1998.** Insects and climate. In The impact of climate change on Ontario's forests. Colombo, S.J., Buse, L.J., Cherry, M.L., Graham, C., Greifenhagen, S., McAlpine, R.S., Papadapol, C.S., Parker, W.C., Scarr, R., Mikaelian, M.L. and Flannigan, M.D. Ontario Forest Research Institute, *Forest research paper* n° 143. pp. 50.
- Scheirs, J., Debruyne, L. and Verhagen, R. 2001.** Nutritional benefits of the leafmining behaviour of two grass miners: a test of the selective feeding hypothesis. *Ecological Entomology*, **26** : 509-516.
- Schijlen, E.G.W.M., Ric de Vos, C.H., Van Tunen, A.J. and Bovy, A.G. 2004.** Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, **12**: 3191-3195.
- Schmeltz, A.E., Alborn, T.H., Engelberth, J. and Tumlinson, H.J. 2003.** Nitrogen deficiency increases volicitin-induced volatile emission, jasmonic acid accumulation, and ethylene sensitivity in Maize. *Plant physiology*, **133** : 295-306.
- Schofield, P., Mbugua, D.M. and Pell, A.N. 2001.** Analysis of condensed tannins: a review : *Animal feed science and technology*. **91**: 21-40.
- Sener, B., Bingo, F., Erdogan, I., Bowers, S.W., and Evans, H. P. 1998.** Biological activities of some Turkish medicinal plants. *Pure & Applied Chemistry*, **70**: 403-406.
- Shirley, B.W. 1996.** Flavonoid biosynthesis : 'new' functions for an 'old' pathway. *Trend in plant science reviews*, **11** (1) : 377-382.
- Shulbert, W., Ericksson, U., Edgar, B., Cullberg, G. and Hedner, T. 1995.** Flavonoids in grapefruit juice inhibits the *in vitro* hepatic metabolism of 17 beta-estradiol. *J. Drug Metab. Pharmacokinet*, **20**: 219-224.
- Simmonds, J.S.M. 2003.** Flavonoids-insect interactions : recent advances in our knowledge. *Phytochemistry*, **64** : 21-30.
- Singleton, V.L. and Rossi, Jr. J.A. 1965.** Colorimetry total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16** : 144-158.
- Siskos, P.E., Krokos, D.F., and Mazomenos, E.B. 2002.** Chemicals with insecticidal properties isolated from Citrus aurantium peel extract. ESPR-Environ. *Sci and Pollut. Res.* Special Issue. 3 : 274. Poster presentation session 5. 8th FECS conference.
- Slansky, F.Jr. and Rodriguez, J.G. 1987.** Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates: an overview, pp. 1-69. In: Slansky, F.Jr. and Rodriguez, J.G. (eds.), Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. Wiley, New York.
- Smith, M.J. and Hoy, A.M. 1995.** Rearing methods for *Agonaspis citricola* (Hymenoptera : Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera : Eulophidae) released in a classical Biological control program for the Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Gracillariidae). *Florida Entomologist*, **78** (4) : 600-908.
- Smith, P. 1976.** Collapse of Murcott' tangerine trees. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **101**: 23-5.

- Soper, D.S. 2013.** "p-Value Calculator for Correlation Coefficients (Online Software)", <http://www.danielsoper.com/statcalc>.
- Stalikas, C.D. 2007.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30: 3268–3295.
- Stampa, N. 2003.** Out of the Quagmire of plant defence hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78 : 23-55.
- Stelinski, L.L. and Czokajlo, D. 2010.** Suppression of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, with an attract-and-kill formulation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 134 : 69–77.
- Stiling, P. and Cornelissen, T. 2007.** How does elevated carbon dioxide (CO₂) affect plant-herbivore interaction ? A field experiment and meta-analysis of CO₂ – mediated changes on plant chemistry and herbivore performance. *Global change Biology*, 3 : 1-20.
- Swain, T. 1977.** Secondary compounds as protective agents. *Annual review of plants physiology*, 28 : 479-501.
- Swatsitang, P., Tucker, G., Robards, K. and Jardine, D. 2000.** Isolation and identification of phenolic compounds in *Citrus sinensis*. *Analytical Chimica Acta*. 417 : 231-240.
- Swingle, W.T. and Reece, P.C. 1967.** The botany of *Citrus* and its wild relatives. In *Citrus Industry*, Vol. I, ed. W. Reuther, H. J. Webber.
- Takos, A.M., Ubi, B.E., Robinson, S.P. and Xalker, A.R. 2006.** Condensed tannins biosynthesis genes are regulated separately from other flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin. *Plant Science*. 170: 487-499.
- Tamesse, J.L., Messi, J., Silatsa-Soufo, E., Kambou, J., Tiago, A. B. and Ndong, A.O. 2002.** Complexe des parasitoïdes de *Trioza erytrae* (Del Guercio) (Homoptera:Trioizidae), psylle des agrumes au Cameroun. *Fruits*, 57 :19-28.
- Tanaka, T. 1961.** Citrologia semi centennial commemoration papers on *Citrus* studies. Osaka: *Citrologia Supporting Foundation*. 114 pp.
- Tanguy, J. 1971.** Quelques aspects du métabolisme des composés phénoliques chez les *Nicotiana* hypersensibles au virus de la mosaïque du Tabac souche commune (V.M.T). *physiol. Vég.* 9 (2) : 169-187.
- Thaler, S.J., Karban, R., Ullman, E.D., Boege, K. and Bostoch, M.R. 2002.** Cross-talk between jasmonate and salicylate plant defense pathways : effets on several plant parasites. *Oecologia*, 131 : 227-235.
- Thoison, O., Sevenet, T., Niemeyer M.H. and Russell, B.G. 2004.** Insect antifeedant compounds from *Nothofagus dombeyi* and *N. pumilio*. *Phytochemistry*, 65 : 2173-2176.
- Thoma, J.K. et Callaghan, A. 1999.** The use of Garlic (*Allium sativa*) and Lemon peel (*Citrus limon*) extracts as *Culex pipiens* larvacides : Persistence and ineration with an organophosphate resistance mechanism. *Chemosphere*, vol. 39 n° 14 : 2489-2496.

- Tsitsimpikou, C., Hoxha, S., Petrakis, V.P., Vagias, C. and Roussis, V. 2002.** Indigenous Natural Enemies Associated with *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Gracillariidae) in Eastern Spain. *Biological control*, **18** : 199-207.
- Urbaneja, A., Llacer, E., Tomàs, Ó., Garrido, A., and Jacas, J. A. 2000.** Indigenous Natural enemies associated with *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera : Gracillariidae) in Eastern Spain. *Biological control*. **18** : 199–207.
- Urbaneja, A., Llacer, E., Tomas, O., Garrido A., and Jacas, J.A. 2001.** Effect of Temperature on the Life History of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a Parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Biological Control*, **21** : 293–299.
- Urquiaga, I. et Leighton, F. 2000.** Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, **33** (2) : 55-64.
- Varanda, E.M., Pais, M.P. 2006.** Insect folivory in *Didymopanax vinosum* (Apiaceae) in a vegetation mosaic of Brazilian Cerrado. *Brazilian Journal of Biology*, **66** (2) : 671–680.
- Vercher, R., Farias, A., Marzal, C., Soto A., Tena, A. and Garcia-Mari, F. 2008.** Factors influencing adult female oviposition in the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*. *Agricultural and Forest Entomology*, **10** : 45–51.
- Verhoeven, M.E., Bovy, A., Collins, G., Muir, S., Robinson, S., De Vos, C.H.R. and Colliver, S. 2002.** Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthesis pathway. *Journal of experimental botany*, **53** (377): 209 - 210.
- Vet, L.E.M. and Dicke, M. 1992.** Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu. Rev. Entomol.* **37** : 141-172.
- Walling, L.L. 2000.** The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation*, **19** : 195-216.
- Waterhouse, A.L. 2001.** Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, **II.1.1-II.1.8**.
- W-Erdman, J., Balentine, J.D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Folts, J., H., Hollman, J.P.L., Keen C., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G. and Burrowes, J. 2007.** Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition.*, **137** (3 supp1) : 718 -737.
- Whitman, C.S., Kurowska, M.E., Manthey, A.J. and Daugherty, A. 2005.** Nobelitin, a *Citrus* flavonoid isolated from tangerines, selectively inhibits class A scavenger receptor-mediated metabolism of acetylated LDL by mouse macrophages. *Atherosclerosis*, **178**: 25-32.
- Whittaker, R.K. and Feeny, P.P. 1971.** Allelochemicals : chemical interactions between species. *Science*, **171** : 757-769.

- Wilson, C.G. 1991.** Notes on *Phyllocnistis citrella* Staiton (Lepidoptera : Phyllocnistidae) attacking four *Citrus* varieties in Darwing. *J. Austr. Entomol. Soc.* **30** (1) : 77-78.
- Wollgast, J. et Anklam, E. 2000.** Review on polyphenols in *Theobroma cacao* : changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, **33**: 423-447.
- Xie, D.Y. and Dixon, R.A. 2005.** Proanthocyanidin biosynthesis- still more questions than answers. *Phytochemistry*. **66**: 2127–2144.
- Zhang, A., O'leary, C. and Quarles, W. 1994:** Chinese IPM for Citrus Leaf Miner. *IPM Practitioner*, **16** : 10-13.
- Zhang, H.Y., Yang, D.P. and Tang, G.Y. 2006.** Multipotent antioxidants: from screening to design. *Drug. Discov. Today*, **11** : 749–754.

----Annexes----

Annexe 1 : Mortalités des larves de *P. citrella*.

Tableau 1 : Taux (%) de mortalités cumulées des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

Larve/traitement Durée	L ₁			L ₂			L ₃		
	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.
6h	0	10	42	2	0	60	0	8	30
18h	4	10	48	6	10	78	0	18	38
24h	6	14	56	10	18	78	0	18	38
48h	16	46	72	24	28	88	0	28	46
72h	24	78	98	30	50	98	2	36	52

Tableau 2 : Taux (%) de mortalités cumulées des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

Larve/traitement Durée	L ₁			L ₂			L ₃		
	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.
6h	0	0	60	0	4	54	0	2	18
18h	6	10	88	12	16	82	8	12	84
24h	6	10	94	16	18	88	8	20	90
48h	6	48	96	16	38	94	8	36	100
72h	18	52	100	16	52	96	14	40	100

Tableau 3 : Taux (%) de mortalités par tranches d'heures des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (orangers).

larve/traitement Période	L ₁			L ₂			L ₃		
	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.
0-6h	0	10	42	2	0	60	0	8	30
6-18h	4	0	10,34	4,08	10	45	0	10,87	14,43
18-24h	2,08	4,44	15,38	4,26	8,89	0	0	0	0
24-48h	10,64	37,21	36,36	15,56	12,19	45,45	0	12,19	12,90
48-72h	9,52	59,26	92,86	7,89	30,56	83,33	2	11,11	11,11

Tableau 4 : Taux (%) de mortalités par tranches d'heures des larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* traitées avec l'extrait phénolique brut (clémentiniers).

larve/traitement Période	L ₁			L ₂			L ₃		
	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.	Tém.	Pul.	Irrig.
0-6h	0	0	60	0	4	54	0	0	6
6-18h	6	10	70	12	12,5	60,87	2	16	6,38
18-24h	0	0	50	4,54	2,38	33,33	0	4,76	6,82
24-48h	0	42,22	33	0	24,39	50	0	0	14,63
48-72h	12,77	7,69	100	0	22,58	33,33	4,08	15	2,86

Tableau 5 : Taux (%) de mortalité globale des larves (tous stades confondus) de *Phyllocnistis citrella* (orangers).

Larves		L ₁	L ₂	L ₃	Moyennes (%)
Durées/traitements					
6h	Tém.	0	2	0	0,66
	Pul.	10	0	8	6
	Irrig.	42	60	30	44
18h	Tém.	4	6	0	3,33
	Pul.	10	10	18	12,66
	Irrig.	48	78	38	54,66
24h	Tém.	6	10	0	5,33
	Pul.	14	18	18	16,66
	Irrig.	56	78	38	57,33
48h	Tém.	16	24	0	13,33
	Pul.	46	28	28	34
	Irrig.	72	88	46	68,66
72h	Tém.	24	30	2	18,66
	Pul.	78	50	36	54,66
	Irrig.	98	98	52	82,66

Tableau 6 : Taux (%) de mortalité globale des larves (tous stades confondus) de *Phyllocnistis citrella* (clémentiniers).

Larves		L₁	L₂	L₃	Moyennes (%)
Durées/traitements					
	Tém.	0	0	0	0
6h	Pul.	0	4	2	2
	Irrig.	6	57	18	26
	Tém.	6	12	8	8,86
18h	Pul.	10	16	12	12,66
	Irrig.	88	82	84	84,66
	Tém.	6	16	8	10
24h	Pul.	10	18	20	16
	Irrig.	94	88	90	90,66
	Tém.	6	16	8	10
48h	Pul.	48	38	36	40,66
	Irrig.	96	94	100	96,66
	Tém.	18	16	14	16
72h	Pul.	52	52	40	48
	Irrig.	100	96	100	98,66

Annexe 2 : Efficacité de la solution phénolique

Tableau 7 : Efficacité de la solution phénolique sur les larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (orangers).

Larve		L ₁	L ₂	L ₃
Durée/traitement				
6h	Pul.	10	0	8
	Irrig.	42	59,18	30
18h	Pul.	6,25	4,25	18
	Irrig.	45,83	76,59	38
24h	Pul.	8,51	8,89	18
	Irrig.	59,19	75,55	38
48h	Pul.	35,71	5,26	28
	Irrig.	66,66	84,21	46
72h	Pul.	71,05	28,57	34,69
	Irrig.	97,37	97,17	51,02

Tableau 8 : Efficacité de la solution phénolique sur les larves (L₁, L₂ et L₃) de *Phyllocnistis citrella* (clémentiniers).

Larve		L ₁	L ₂	L ₃
Durée/traitement				
6h	Pul.	0	4	2
	Irrig.	60	54	18
18h	Pul.	4,25	4,54	4,35
	Irrig.	87,23	79,54	80,43
24h	Pul.	4,25	2,38	13,04
	Irrig.	93,62	85,71	89,13
48h	Pul.	44,68	26,19	30,43
	Irrig.	95,74	92,86	100
72h	Pul.	41,46	42,86	30,23
	Irrig.	100	95,24	100

Tableau 9 : Comparaison des moyennes du facteur traitement par le test de Newman-Keuls au seuil de 0,05

Espèces vég.	Témoin	Pulvérisation	Irrigation	Test F
<i>Citrus sinensis</i>	8,27 \pm 7,06 ^c	23,47 \pm 16,20 ^b	61,47 \pm 13,90 ^a	93,74*
<i>Citrus clementina</i>	8,93 \pm 5,42 ^c	23,87 \pm 18,44 ^b	82,93 \pm 21,16 ^a	32,44*

a–b–c : les valeurs dans la même ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Annexe 3 : Sensibilité des larves (L₁, L₂ et L₃) de *P. citrella*

Tableau 10 : Comparaison des moyennes du facteur stade larvaire par le test de Newman-Keuls au seuil de 0,05

Espèces vég.	Stade L ₁	Stade L ₂	Stade L ₃	Test F
<i>Citrus sinensis</i>	43,66a±24,54	43,96a±48,89	30,97b±13,62	7,689*
<i>Citrus clementina</i>	53,12a±48,36	48,73a±46,86	46,98a±43,80	1,192*

a–b–c : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Tableau 11 : Comparaison des moyennes de l'interaction stade larvaire/méthode de traitement par le test de Newman-Keuls au seuil de 0,05

Espèces vég.	Irrig.	Irrig.	Irrig.	Pul.	Pul.	Pul.	Test F
	L ₁	L ₂	L ₃	L ₁	L ₂	L ₃	
<i>Citrus sinensis</i>	61,01b	78,54a	40,60c	26,30d	9,39e	21,34d	35,385*
	±	±	±	±	±	±	
	22,40	13,83	8,12	27,73	11,18	10,28	
<i>Citrus clementina</i>	87,32a	81,47a	77,95a	18,93b	15,19b	16,01b	0,336
	±	±	±	±	±	±	
	15,95	16,55	34,33	22,14	18,67	13,71	

a–b–c–d–e : les valeurs dans la même ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Annexe 4 : Données climatiques de la région de Mostaganem

Tableau 12 : Températures et Humidités mensuelles (2000 – 2011).

Mois	T° moyennes °C			H° Relatives moyennes (%)
	max.	min.	moy.	
Janvier	15,70	6	10,65	81,53
Février	15,89	6,71	11,30	79,87
Mars	19,06	9,08	14,08	78,40
Avril	23,89	9,43	16,63	72,70
Mai	25,40	13,58	19,46	70,35
Juin	28,92	17,50	23,21	64,70
Juillet	32,28	19,18	25,73	63,10
Août	31,96	19,64	25,73	63,65
Septembre	28,98	17,52	23,25	78,00
Octobre	26,20	13,28	19,74	71,70
Novembre	22,00	8,60	15,30	71,20
Décembre	18,30	8,30	12,30	82,90

(Source : O.N.M. Mostaganem 2000 – 2011)

Annexe 5 : Contamination de *P. citrella* et analyses chimiques des feuilles de Citrus.Tableau 13 : Contamination de *P. citrella*, teneurs en composés phénoliques totaux, taux d'azote et taux de carbone total (orangers).

PS	N° d'éch.	Dates	Cont. %	C.P.T mg/g MS	H.F.%	C% MF	N% MS	C/N
PSI	01	06/03	0	22,10±0,32	73,88±0,13	9,69±0,04	5,14±0,15	4,99±0,15
	02	13/03	0	14,46±0,34	72,30±0,19	7,10±0,06	5,01±0,15	5,12±0,14
	03	20/03	0	13,57±0,30	72,35±0,23	7,09±0,08	4,65±0,23	5,53±0,29
	04	27/03	0	13,33±0,00	73,44±0,04	6,79±0,01	4,94±0,15	5,18±0,17
	05	03/04	0	10,73±0,00	73,91±0,04	6,67±0,01	3,85±0,13	6,64±0,23
	06	10/04	0	21,05±0,15	74,81±0,13	6,36±0,02	3,21±0,14	7,88±0,34
	07	17/04	0	20,55±1,09	76,25±0,18	6,02±0,05	2,56±0,10	9,91±0,41
	08	24/04	0	20,19±0,26	77,87±0,22	5,67±0,07	2,45±0,14	10,49±0,65
	09	01/05	0	17,94±2,34	76,72±0,17	5,97±0,04	2,12±0,16	12,15±0,88
	10	08/05	0	17,72±0,85	74,94±0,11	6,43±0,01	2,03±0,16	12,70±0,99
	11	15/05	0	17,95±1,80	74,55±0,19	6,50±0,05	1,98±0,16	12,97±1,10
	12	22/05	0	16,23±0,35	75,01±0,20	6,46±0,04	2,32±0,17	11,19±0,81
	13	29/05	0	11,31±0,84	74,72±0,20	6,48±0,04	1,87±0,11	13,74±0,79
	14	05/06	0	11,94±0,16	74,13±0,11	6,67±0,01	1,75±0,18	14,87±1,65
PR	01	12/06	2	12,73±0,58	75,93±0,16	6,21±0,05	3,16±0,17	8,19±0,45
	02	19/06	7	8,61±0,35	73,91±0,12	6,63±0,04	3,02±0,17	8,44±0,51
	03	26/06	11	13,33±0,00	75,03±0,30	6,37±0,07	2,85±0,15	8,97±0,50
	04	03/07	15	13,57±0,17	73,19±0,22	6,86±0,06	2,23±0,11	11,51±0,55
	05	10/07	20	12,62±0,26	76,04±0,08	6,16±0,01	2,18±0,08	11,80±0,40
	06	17/07	51	12,68±0,46	76,17±0,13	6,11±0,03	2,19±0,08	11,74±0,46
PSII	01	24/07	86	14,14±0,00	71,08±0,33	7,29±0,09	2,91±0,12	8,68±0,36
	02	31/07	93	15,69±0,10	73,11±0,26	6,78±0,07	2,89±0,15	8,74±0,46
	03	07/08	97	18,70±0,86	74,65±0,12	6,52±0,03	2,71±0,11	9,51±0,42
	04	14/08	94	20,21±0,41	73,42±0,17	6,84±0,04	2,99±0,17	8,63±0,50
	05	21/08	98	20,23±0,52	73,75±0,24	6,72±0,05	3,15±0,20	8,15±0,54
	06	28/08	99	21,00±0,13	74,31±0,17	6,67±0,07	2,52±0,20	9,91±0,58
	07	04/09	97	20,17±0,13	74,38±0,20	6,57±0,06	2,39±0,16	10,77±0,70
	08	11/09	99	18,82±0,36	74,91±0,20	6,44±0,04	1,86±0,13	13,87±1,04
	09	18/09	100	17,56±0,46	75,84±0,16	6,19±0,19	1,87±0,08	13,74±0,61
PSIII	01	25/09	83	19,53±0,27	74,51±0,29	6,55±0,08	2,66±0,16	9,69±0,59
	02	02/10	95	18,47±1,76	74,31±0,11	6,61±0,02	2,06±0,16	12,57±1,04
	03	09/10	98	17,15±0,68	74,06±0,09	6,70±0,03	2,69±0,17	9,63±0,60
	04	16/10	100	19,03±0,73	73,36±0,19	6,88±0,03	1,98±0,18	13,14±1,11
	05	23/10	100	16,92±0,51	73,29±0,24	6,87±0,05	2,16±0,17	11,98±0,98
	06	30/10	74	16,30±0,22	72,85±0,16	7,00±0,05	2,38±0,13	10,8 ±0,61
	07	06/11	56	14,57±0,64	72,67±0,20	7,08±0,05	2,89±0,19	8,70±0,45
	08	13/11	40	17,64±0,64	71,83±0,09	7,29±0,03	3,54±0,11	7,31±0,22
	09	20/11	32	13,23±0,57	66,99±0,19	8,56±0,01	4,01±0,19	6,48±0,35
	10	27/11	35	13,20±0,41	66,71±0,17	8,67±0,07	4,33±0,17	6,02±0,23
	11	04/12	30	12,82±0,18	66,37±0,13	8,74±0,05	4,16±0,16	6,25±0,25

Tableau 14 : Contamination de *P. citrella*, teneurs en composés phénoliques totaux, taux d'azote et taux de carbone total (clémentiniers).

PS	N° d'éch.	Dates	Cont. %	C.P.T mg/g MS	H.F.%	C% MF	N% MS	C/N
PSI	01	06/03	0	39,42±0,00	76,47±0,07	5,99±0,03	5,51±0,21	4,62±0,16
	02	13/03	0	20,97±0,00	73,83±0,17	6,60±0,05	5,72±0,13	4,42±0,10
	03	20/03	0	13,01±0,42	72,90±0,08	6,94±0,02	5,12±0,17	5,01±0,17
	04	27/03	0	12,10±0,34	74,05±0,23	6,62±0,07	4,75±0,13	5,38±0,16
	05	03/04	0	34,56±0,28	73,73±0,07	6,72±0,01	3,84±0,21	6,68±0,38
	06	10/04	0	42,63±0,89	75,72±0,08	6,16±0,02	3,33±0,26	7,67±0,62
	07	17/04	0	40,70±1,34	75,96±0,19	6,11±0,04	3,09±0,16	8,23±0,45
	08	24/04	0	43,19±0,91	77,18±0,11	5,89±0,05	2,57±0,17	10,08±0,65
	09	01/05	0	35,85±1,10	76,05±0,10	6,17±0,02	2,09±0,17	12,38±1,04
	10	08/05	0	33,00±2,28	75,27±0,13	6,40±0,04	2,13±0,22	12,38±1,25
	11	15/05	0	32,81±0,77	74,93±0,10	6,42±0,02	2,01±0,24	12,89±1,56
	12	22/05	0	26,38±0,61	74,21±0,18	6,68±0,05	2,27±0,22	11,48±1,13
	13	29/05	0	20,71±0,00	73,44±0,18	6,82±0,05	1,99±0,12	12,94±0,76
	14	05/06	0	18,40±0,00	71,11±0,09	7,37±0,02	1,98±0,16	12,96±1,05
PR	01	12/06	0	24,82±2,10	68,27±0,29	8,22±0,09	3,33±0,17	7,79±0,41
	02	19/06	10	16,71±1,17	68,34±0,16	8,25±0,04	2,94±0,17	8,88±0,51
	03	26/06	13	25,85±0,31	69,23±0,20	7,97±0,06	2,66±0,20	9,78±0,74
	04	03/07	25	25,77±1,90	70,38±0,31	7,67±0,07	1,99±0,15	13,09±1,06
	05	10/07	29	23,11±1,51	75,69±0,13	6,31±0,04	1,78±0,10	14,61±0,79
	06	17/07	49	20,86±3,11	77,73±1,54	5,76±0,42	1,81±0,14	14,35±1,05
PSII	01	24/07	77	23,55±0,00	71,46±0,13	7,24±0,03	2,74±0,01	9,27±0,44
	02	31/07	88	28,24±2,53	70,77±0,22	7,56±0,05	2,54±0,15	10,54±0,41
	03	07/08	92	33,25±3,17	71,65±0,17	7,31±0,04	2,61±0,14	9,90±0,53
	04	14/08	99	34,32±0,22	72,12±0,18	7,21±0,06	2,22±0,16	11,71±0,91
	05	21/08	97	39,46±1,65	71,61±0,18	7,30±0,05	2,10±0,10	12,27±0,58
	06	28/08	100	38,27±0,90	71,27±0,10	7,52±0,02	1,93±0,08	13,83±1,73
	07	04/09	99	41,26±2,12	73,01±0,13	6,94±0,03	1,95±0,13	13,24±0,86
	08	11/09	96	40,80±1,14	70,95±1,81	7,51±0,51	1,84±0,08	14,05±0,52
	09	18/09	98	39,18±0,73	76,00±0,02	6,14±0,00	1,89±0,16	14,30±0,10
PSIII	01	25/09	99	39,15±1,63	74,85±0,30	6,44±0,09	2,78±0,16	9,23±0,49
	02	02/10	100	37,54±2,60	74,85±0,13	6,46±0,04	2,71±0,12	9,48±0,38
	03	09/10	98	35,05±0,75	75,25±0,07	6,36±0,03	2,25±0,10	11,44±0,52
	04	16/10	100	19,20±0,77	74,60±0,14	6,53±0,03	2,31±0,10	11,14±0,49
	05	23/10	95	30,31±0,52	73,34±0,30	6,85±0,08	2,29±0,11	11,24±0,50
	06	30/10	89	27,53±0,28	73,10±0,32	6,91±0,09	2,81±0,23	9,19±0,70
	07	06/11	81	24,51±1,00	71,44±0,30	7,44±0,06	3,26±0,16	7,94±0,45
	08	13/11	77	26,59±0,36	68,11±0,17	8,15±0,04	3,27±0,16	7,83±0,36
	09	20/11	40	23,58±0,28	68,99±0,01	8,04±0,00	3,89±0,16	6,60±0,33
	10	27/11	39	19,88±0,50	67,82±0,28	8,28±0,07	4,56±0,26	5,66±0,33
	11	04/12	35	18,83±0,26	67,23±0,75	8,43±0,24	4,66±0,11	5,52±0,13

Tableau 15 : Taux de contamination, teneurs en composé phénoliques totaux, taux d'azote total et taux de carbone total par poussée de sève (orange rs)

Poussées de sève	Cont. %	CPT mg/g MS	C% MF	HF	N% MS	C/N
PSI	0	16,85 \mathbf{b} \pm 0,56	6,42 \mathbf{c} \pm 0,01	74,63 \mathbf{b} \pm 0,06	3,13 \mathbf{a} \pm 0,03	8,17 \mathbf{b} \pm 0,11
PR	17,68 \pm 16,66	12,11 \mathbf{c} \pm 0,15	6,39 \mathbf{b} \pm 0,01	75,05 \mathbf{a} \pm 0,04	2,60 \mathbf{b} \pm 0,01	9,85 \mathbf{a} \pm 0,45
PSII	95,89 \pm 4,24	18,78 \mathbf{a} \pm 0,37	6,67 \mathbf{b} \pm 0,04	73,92 \mathbf{c} \pm 0,15	2,59 \mathbf{b} \pm 0,05	9,89 \mathbf{a} \pm 0,24
PSIII	67,55 \pm 28,77	16,27 \mathbf{b} \pm 0,37	7,40 \mathbf{a} \pm 0,01	71,51 \mathbf{d} \pm 0,02	3,02 \mathbf{a} \pm 0,08	8,66 \mathbf{b} \pm 0,27

a–b–c–d : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Tableau 16 : Taux de contamination, teneurs en composés phénoliques totaux, taux d'azote total et taux carbone total par poussée de sève (clémentiniers)

Poussées de sève	Cont. %	CPT mg/g MS	C% MF	HF	N% MS	C/N
PSI	0	30,35 \mathbf{b} \pm 0,7	6,49 \mathbf{b} \pm 0,00	74,63 \mathbf{a} \pm 0,03	3,31 \mathbf{a} \pm 0,06	7,72 \mathbf{c} \pm 0,13
PR	21 \pm 16,46	23,23 \mathbf{d} \pm 0,35	7,36 \mathbf{a} \pm 0,07	74,05 \mathbf{b} \pm 0,02	2,42 \mathbf{c} \pm 0,12	10,74 \mathbf{b} \pm 0,5
PSII	94 \pm 7,23	35,99 \mathbf{a} \pm 1,44	7,22 \mathbf{a} \pm 0,10	73,65 \mathbf{c} \pm 0,02	2,20 \mathbf{d} \pm 0,06	11,7 \mathbf{a} \pm 0,31
PSIII	77,55 \pm 25,90	26,72 \mathbf{c} \pm 1,30	7,23 \mathbf{a} \pm 0,06	73,39 \mathbf{d} \pm 0,03	3,16 \mathbf{b} \pm 0,06	8,13 \mathbf{c} \pm 0,15

a–b–c–d : les valeurs dans la même colonne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$).