

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE de TLEMCEM

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**Département Ecologie et Environnement
Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels**

MEMOIRE DE MAGISTER

Option : Gestion intégrée des écosystèmes

Présenté par :

M^{elle} : Benazzouz Fatima zohra

Thème

**Etude de l'activité antiparasitaire et antimicrobienne des
extraits de zests d'oranges *Citrus sinensis* var. Washington
navel sur le ravageur *Ceratitis capitata* et la mycoflore qui lui
est associée.**

Soutenu le :

Devant le Jury :

Président : Mr Benabadji N.	Professeur	Université de Tlemcen
Promoteur : Mme Gaouar Benyelles N.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice : Mme Bekhchi C.	MCA	Université de Tlemcen
Examineur : Mr Mesli L.	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2014-2015

Remerciements

Je remercie **DIEU** tout puissant, Maître des Cieux et de la Terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Tout d'abord je tiens surtout à adresser de chaleureux remerciements à **Mme GAOUAR-BENYELLES N.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour son attention de tout instant sur mes travaux, pour ses conseils avisés et son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de ce mémoire. Son énergie, sa gentillesse et sa confiance ont été des éléments moteurs pour moi. Merci pour tout, je ne trouve pas les mots pour exprimer mes sentiments réels et ma gratitude. Merci beaucoup madame.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mr Benabadji N.**, Professeur à l'Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également **Mme Bekhchi C.**, Maître de Conférences à la Faculté S.N.V.S.T.U. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de me faire l'honneur d'examiner mon mémoire de Magister.

Je tiens à remercier vivement **Mr Mesli L.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes vifs remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire :

Mr Dib M.A., Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour effectuer l'hydrodistillation des huiles essentielles.

Mr BELYAGOUBI L., enseignant à l'Université de Tlemcen pour tout le temps qu'il a consacré pour m'aider à la réalisation de la partie microbiologique.

Mme Msaad M., Université de Sidi Thabet Tunis, Merci pour son accueil au sein de son laboratoire. (Centre National des Sciences Technologiques et Nucléaires de Sidi Thabet Tunisie). Un grand merci pour ses explications, son aide, ses conseils et sa gentillesse.

Mr Hamden H., et **Mr Ben Ali N.**, Merci pour leurs aides, leurs explications et leurs conseils.

Enfin, mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

- ❖ *la lumière de mes yeux, et le bonheur de ma vie mes très chers parents, qui sont la source de ma réussite, pour leurs sacrifices, leurs conseils et leurs encouragements.*
- ❖ *mes très chères sœurs*
- ❖ *mes très chers frères*
- ❖ *mon fiancé Miloud*
- ❖ *mes nièces Meriem et Amira.*
- ❖ *toute ma famille et tous mes ami (e)s.*

Fatima Zohra

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Coupe d'une orange (on peut remarquer les petites poches d'huile essentielle).	4
Figure 2 :	Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression	5
Figure 3 :	photo d'un oranger	8
Figure 4 :	fleur de <i>Citrus sinensis</i> L.	9
Figure 5 :	feuilles et fruits de <i>Citrus sinensis</i> .	10
Figure 6 :	<i>Aspergillus sp.</i> sur citron	13
Figure 7 :	<i>Alternaria sp.</i> sur mandarine	14
Figure 8 :	<i>Geotricum candidum</i> sur orange	15
Figure 9 :	<i>P. italicum</i> sur citron	15
Figure 10 :	<i>P. digitatum</i> sur mandarine	15
Figure 11 :	<i>Phytophthora sp.</i> sur orange	17
Figure 12 :	<i>Phytophthora sp</i> sur orange	17
Figure 13 :	aire de distribution actuelle (décembre 2013) de <i>Ceratitis capitata</i> (Wied.).	20
Figure 14 :	œufs de <i>C. capitata</i>	22
Figure 15 :	adulte de la cératite (a1 et a 2 : femelle ; b1 et b2: mâle)	23
Figure 16 :	Cycle de développement de <i>C. capitata</i>	24
Figure 17 :	Schéma représentant le nombre de générations possibles en Algérie	25
Figure 18 :	Structure de tanin hydrolysable (gallotanin)	34
Figure 19 :	Structure de tanin condensé	35
Figure 20 :	Structure de flavonoïdes	35
Figure 21 :	Situation géographique de la wilaya de Tlemcen (P.D.A.U, 2006).	43
Figure 22 :	Valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles de la station de Maghnia	45
Figure 23 :	Répartition saisonnière des pluies (2004-2014)	46
Figure 24 :	Variations des températures mensuelles moyennes pour la période 2004-2014.	47
Figure 25 :	Diagramme ombrothermique de la période (2004-2014) de la station de Maghnia.	48
Figure 26 :	Climagramme d'Emberger pour notre région d'étude (2004-2014)	50
Figure 27 :	Matériel d'élevage au laboratoire	53
Figure 28 :	photo du prélèvement	55
Figure 29 :	Technique de microculture.	57
Figure 30 :	Plan de travail.	58
Figure 31 :	Dispositif d'hydrodistillation	64

Figure 32 :	Courbe d'étalonnage standard pour le dosage des polyphénols.	66
Figure 33 :	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.	67
Figure 34 :	Principe de la chromatographie sur couche mince.	69
Figure 35 :	Le test des extraits phénoliques sur les adultes de <i>C.capitata</i> .	71
Figure 36 :	Le test de l'huile essentielle sur les adultes de <i>C.capitata</i> .	71
Figure 37 :	Moyennes de trous de ponte en fonction de l'orientation	74
Figure 38 :	Moyennes de trous de ponte en fonction de l'arbre.	75
Figure 39 :	Cinétique des trous de ponte selon la date	75
Figure 40 :	Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres	76
Figure 41 :	Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.	77
Figure 42 :	Cinétique des fruits chutés selon la date.	78
Figure 43 :	Courbe de régression relative à la relation des piqûres et des arbres avec $R^2=21$	79
Figure 44 :	Courbe de régression relative à la relation des piqûres et les fruits chutés	79
Figure 45 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria sp.</i>	81
Figure 46 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus sp</i>	81
Figure 47 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Monilia sp.</i>	81
Figure 48 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp1.</i>	82
Figure 49 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp2.</i>	82
Figures 50 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp3.</i>	82
Figures 51 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp4.</i>	82
Figures 52 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	83
Figure 53:	Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées	84
Figure 54:	Taux de la matière sèche de l'écorce d'orange	85
Figure 55:	Rendements massiques des flavonoïdes et des tanins.	86
Figure 56:	Teneurs en phénols totaux dans l'écorce saine et infectée des oranges.	87
Figure 57:	Teneurs en flavonoïdes des écorces saines et infectées des oranges.	87
Figure 58:	Teneurs en tanins des écorces saines et infectées des oranges.	88
Figure 59:	Photo de la plaque C.C.M pour l'identification des flavonoïdes chez l'orange.	89
Figure 60:	Pourcentages d'inhibition des extraits tanniques d'orange sur les différentes souches fongiques	99
Figure 61 :	Pourcentages d'inhibition des différentes souches fongiques par l'huile essentielle d'orange.	100
Figure 62 :	Effets de l'huile essentielle et des extraits tanniques et flavonoïques de l'oranger sur A (<i>Monilia sp</i>), B (<i>Penicillium sp1</i>), C (<i>Penicillium sp2</i>), D (<i>Alternaria sp</i>) et E (<i>Aspergillus sp</i>)	102

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :	Origines des espèces d'agrumes	3
Tableau 02 :	Critères de la classification botanique chez les agrumes	6
Tableau 03 :	Dates d'apparition et de répartition de <i>Ceratitis capitata</i> dans le monde.	21
Tableau 04 :	Répartition des agrumes dans la Wilaya de Tlemcen.	42
Tableau 05 :	Données géographiques de la station météorologique	44
Tableau 06 :	Régime saisonnier des précipitations pour la période 2004-2014	45
Tableau 07 :	Températures moyennes mensuelles à la station de Maghnia de 2004 à 2014.	47
Tableau 08 :	Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés.	80
Tableau 09 :	Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées.	83
Tableau 10 :	Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'écorce d'orange.	85
Tableau 11 :	Résultats de C.C.M pour les extraits des flavonoïdes chez l'orange	89
Tableau 12 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase acétate d'éthyle des flavonoïdes après 72h.	90
Tableau 13 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase n-butanol après 72h.	91
Tableau 14 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations des tanins après 72h.	92
Tableau 15 :	Taux de mortalité des stades L1 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques	93
Tableau 16 :	Taux de mortalité des stades L2 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.	94
Tableau 17 :	Taux de mortalité des adultes de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle.	95
Tableau 18 :	Taux de mortalité des larves L1 de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.	96
Tableau 19 :	: taux de mortalité des larves L2 de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.	97
Tableau 20 :	Résultats de DL50 (μ l) pour chaque extrait.	98
Tableau 21 :	Effet des extraits tanniques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).	98
Tableau 22 :	Effet des extraits flavonoïques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition)	99
Tableau 23 :	Effets des huiles essentielles d'oranger sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).	100

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I: LES AGRUMES	
1. Origine géographique et diffusion des agrumes	3
2. Taxonomie	4
3. Principales variétés d'agrumes	5
4. Production des agrumes dans le monde	6
5. Production des agrumes en Algérie	7
6. Porte greffe chez les agrumes	7
7. Etude de la plante hôte	8
7.1. Morphologie	8
7.1.1. Racines	8
7.1.2. Tronc	8
7.1.3. Feuilles	9
7.1.4. Fleurs	9
7.1.5. Fruits	9
7.1.6. Graines	10
8. Ecologie et phénologie des agrumes	10
8.1. Ecologie	10
8.2. Phénologie	11
9. Principales maladies des agrumes	11
9.1. Désordres physiologiques	
9.2. Maladies bactériennes	12
9.3. Maladies virales	12
9.4. Maladies cryptogamiques	12
9.4.1. Moisissures des fruits	12
9.4.2. Pourrissement des racines et gommose	16
10. Principaux ravageurs	18
PARTIE II : PRESENTATION DU PHYTOPHAGE <i>CERATITIS CAPITATA</i>	19
1. Présentation de la mouche méditerranéenne	19
2. Taxonomie	19
3. Origine et aire de répartition	20
4. Principaux caractères morphologiques	22
4.1. Oeuf	22

SOMMAIRE

4.2. Larve	22
4.3. Pupa	23
4.4. Adulte	23
5. Cycle de développement	24
5.1. Ponte et incubation	24
5.2. Développement larvaire	24
6. Nombre de générations	25
7. Dégâts causés par la cératite	26
8. Lutte	26
8.1. Lutte chimique	26
8.2. Lutte biotechnologique	27
8.3. Lutte biologique	27
8.3.1. Lutte par les prédateurs	27
8.3.2. Lutte microbiologique	28
8.3.3. Lutte parasitologique	28

PARTIE III : POUVOIR ALLELOPATHIQUE DES CITRUS CONTRE LES AGRESSIONS PHYTOPATHOGENES

1. Généralités	29
2. Composés allélopathiques	31
2.1. Nature chimique	31
2.2. Mode d'action au niveau biochimique et cellulaire	31
2.2.1. Quinones	31
2.2.2. Terpènes	32
2.2.3. Phénols	32
3. Participation des composés phénoliques à la résistance des plantes aux parasites	33
4. Principaux composés phénoliques chez les agrumes	34
4.1. Tanins	34
4.1.1. Les tanins hydrolysables	34
4.1.2. Tanins condensés	35
4.2. Flavonoïdes	35
5. Huiles essentielles	36
5.1. Définition	36
5.2. Composition chimique des huiles essentielles	36
5.3. Effets physiologiques et physiques des huiles essentielles	37

SOMMAIRE

5.3.1. Effets physiologiques	37
5.3.2. Effets physiques	37
5.4. Action des huiles essentielles	37
5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	38
5.5.1. Distillation	38
5.5.2. Hydrodistillation	38
5.5.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	38
5.5.4. Hydrodiffusion	39
5.6. Activités biologiques des huiles essentielles	39
5.6.1. Activités antimicrobiennes	39
5.6.1.1. Activité antibactérienne	39
5.6.1.2. Activité antifongique	40
5.6.1.3. Activité antivirale	40
5.7. Activité liée à la composition chimique	41

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

PARTIE 1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

1. Situation géographique de la wilaya de Tlemcen	42
2. Situation de la région de Maghnia	44
3. Climat	44
3.1. Précipitations et variations pluviométriques saisonnières	44
3.2. Les vents	46
3.3. Température	46
3.4. Synthèse bioclimatique	47

PARTIE II : ETUDE ENTOMOLOGIQUE

1. Matériel pour élevage	51
2. Méthodes	51
2.1 Echantillonnage des agrumes	51
2.2 Mise en élevage	52
2.3 Analyses statistiques des données	53
2.3.1. Analyse de variance	53
2.3.2. Corrélacion et régression	53

SOMMAIRE

PARTIE III : ETUDE MYCOLOGIQUE

1. Echantillonnage	55
1.2 Isolement et dénombrement de la flore fongique	55
a. Méthode d'Ulster (Larpent, 1990)	55
b. Purification	56
c. Identification des moisissures	56

Partie IV : Etude des composés phénoliques

1. Plan de travail	58
1.1 Détermination de la teneur en eau :(Audigie et <i>al.</i> , 1980)	59
1.2 Tests phytochimiques	59
1.3.Extractions sélectives	62
1.3.1.Extraction des tanins (Bruneton, 1999)	62
1.3.2.Extraction des flavonoïdes	62
1.3.3.Extraction des huiles essentielles	63
1.4. Dosage des composés phénoliques	64
1.4.1. Dosages des phénols totaux	64
1.4.2. Dosage des flavonoïdes	65
1.4.3.Dosage des tanins	66
1.5. Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) pour l'identification des composés phénoliques de l'orange	67
	69
1.6. Etude de l'activité insecticide	
1.7. Etude de l'activité antifongique	71

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS

1. Etude entomologique	72
1.1. Etude de l'infestation en fonction des trous de ponte	72
1.1.1. Effet de l'orientation	72
1.1.2. Effet de l'arbre	73
1.1.3. Effet de la date	74
1.2. Etude de l'infestation en fonction des fruits chutés	75
1.2.1. Effet de l'orientation	75

SOMMAIRE

1.2.2. Effet de l'arbre	75
1.2.3. Effet de la date	76
1.3. Relation entre les variables liées à l'infestation de l'oranger par <i>C. capitata</i>	77
1.4. Biologie des populations de <i>Ceratitidis capitata</i> à partir des élevages menés au laboratoire	78
2. Etude mycologique	
3. Etude phytochimique	83
3.1. Teneur en eau	83
3.2. Tests phytochimiques	83
3.3. Rendement massique	84
3.4. Dosage des phénols totaux	85
3.5. Dosage des flavonoïdes	86
3.6. Dosage des tanins	86
3.7. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)	87
3.8. Rendement des oranges en huiles essentielles	88
4. Activité insecticide des composés phénoliques extraits	88
4.1. Activité insecticide des flavonoïdes extraits à l'acétate d'éthyle (AET) vis-à-vis des adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	88
4.2. Activité insecticide des flavonoïdes extraits par le nbutanol (nbut) vis-à-vis des adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	89
4.3. Activité insecticide des tanins sur les adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	90
4.4. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L1 de <i>C. capitata</i>	91
4.5. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L2 de <i>Ceratitidis capitata</i>	93
4.6. Effet insecticide des huiles essentielles de l'oranger sur les adultes de la cératite	94
4.7. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L1	95
4.8. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L2	96
4.9. Concentrations létales 50 ou DL50	96
5. Activité antifongique	97
Discussion	101
1. Etude entomologique	101
.Effet orientation	102
.Effet de l'arbre	102
.Effet de la date d'observation	103

SOMMAIRE

.Cycle de développement	103
2. Etude mycologique	105
3. Etude phytochimique	106
4. Activité insecticide	109
5. Activité antifongique	111
Conclusion	111
Conclusion générale	112
Références bibliographiques	113
Annexes	

Introduction

L'arboriculture fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie. Ce grand pays, de par sa position géographique et ses diverses conditions pédoclimatiques, a en effet le privilège de mettre en culture plusieurs espèces fruitières et de produire des fruits frais tout au long de l'année.

De tous les insectes ravageurs menaçant l'arboriculture fruitière, la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Weideman, 1824) (Diptera : Tephritidae), est considérée comme l'une des espèces les plus nuisibles et surtout sur les agrumes et les pêchers dans les pays méditerranés.

Ceratitis capitata est un ravageur important en Afrique, qui s'est disséminé vers pratiquement tous les autres continents ; il est devenu sans aucun doute le ravageur le plus important de sa famille. Cette mouche est très polyphage et provoque des dégâts sur un grand nombre de cultures fruitières non apparentées.

Elle représente un des plus graves problèmes pour l'agriculture en général et l'agrumiculture en particulier. Les dégâts causés par la cératite constituent l'un des principaux obstacles à la production des fruits sains et leur exportation. Les dégâts annuels sont variables et peuvent atteindre 10 à 20% ou plus (**Féron et al., 1956**).

Elle transmet aussi des champignons provoquant la pourriture des fruits.

Parmi les pathogènes existants, certains peuvent avoir des conséquences graves et leur transmission par insectes et autres vecteurs rend leur contrôle difficile. Des maladies fongiques peuvent entraîner des pertes de récolte importantes ou les dépérissements des arbres.

Pour toutes ces raisons, nous avons jugé utile d'étudier les attaques du ravageur *Ceratitis capitata* et de la mycoflore pathogène qui lui est associée dans la région de Maghnia (Wilaya de Tlemcen), notamment sur l'oranger de la variété Washington navel.

Par ailleurs, des travaux effectués sur d'autres plantes ont montré que les végétaux agressés par des insectes sécrètent des composés phénoliques qui jouent un rôle prépondérant dans la défense contre les agressions phytopathogènes grâce à leur pouvoir allélopathique (**Macheix et al., 2005**).

Des mécanismes très importants sont mis en place par la plante lors de phénomènes de résistance vis-à-vis du stress abiotique (stress thermique, hydrique,...) ou stress biotique engendré par les pathogènes (**White et Elson-Harris, 1992**).

Introduction

Les composés secondaires des plantes sont donc des substances allélochimiques susceptibles d'agir comme des systèmes de défense constitutive directe, permettant aux plantes de réduire les dégâts occasionnés par leurs ennemis naturels (**Bouarab et al., 2004**).

De ce fait, les composés phénoliques ont une grande importance en écophysiologie et en relations plantes-environnement ; la résistance à certains parasites peut être associée à la présence de composés phénoliques (phytoalexines) (**Dietz, 2007**) ; par ce travail nous espérons vérifier si l'oranger utilise également ce moyen de résistance grâce à son pouvoir allélopathique, pour lutter contre les attaques parasitologiques et fongiques.

Notre mémoire est scindé en trois chapitres, après l'introduction générale, nous présentons une revue bibliographique qui englobe tout ce qui concerne les agrumes, leur taxonomie, les principales variétés et les ennemis qui peuvent les attaquer; les différents moyens de lutte naturelle y sont décrits, ainsi que les composés phénoliques et leur rôle dans la défense allélopathique de cet arbre ;

Au second chapitre, une présentation de la zone d'étude avec toutes ses caractéristiques bioclimatiques est exposée, en même temps que le matériel et les méthodes expérimentales ainsi que les analyses statistiques utilisées ;

Les résultats et leur discussion sont présentés dans le troisième chapitre qui se subdivise en trois parties :

- **Une étude entomologique** : concernant les attaques de *Ceratitis capitata* et leur répartition spatio-temporelle en considérant l'impact de la date, de l'orientation et de l'arbre échantillonné sur le degré d'infestation durant la période d'étude.
- **Une étude microbiologique** qui consiste à identifier la mycoflore de nos fruits ; nous avons testé l'activité antifongique et antiparasitaire de quelques extraits d'oranger et leur l'huile essentielle contre les souches que nous avons isolé pour savoir s'il existe une lutte naturelle de l'oranger.
- **une étude biochimique** pour identifier les différents composés phénoliques que comporte l'écorce des oranges saines et infectées, leur nature et leur concentration pour savoir s'il existe un pouvoir allélopathique de l'oranger contre ses agresseurs.

Enfin, une conclusion générale avec des perspectives seront exposés, permettant de récapituler les plus importants résultats de notre travail.

PARTIE I : LES AGRUMES

Les agrumes appartiennent à la famille des rutacées et correspondent aux espèces exploitées chez les genres *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*. Dans certaines conditions écologiques, ils sont la cible de nombreux parasites (**Dongmo et al., 2002**).

Ces espèces fruitières sont cultivées dans l'ensemble des régions tempérées chaudes telles que les pays méditerranéens, tropicaux et subtropicaux. Ils sont originaires du sud-est asiatique et se caractérisent par des excroissances sur la tige, des feuilles, des fleurs blanches ou mauves et leurs fruits divisés en sections à peau spongieuse ou lisse et à pulpe juteuse.

Les agrumes sont cultivés principalement pour leurs fruits et pour leur valeur médicinale.

1. Origine géographique et diffusion des agrumes

Les agrumes sont originaires des régions tropicales et subtropicales de l'Inde, de la Chine méridionale, de l'Australie septentrionale et de la Nouvelle Calédonie. la culture des orangers et des pamplemoussiers en Chine remonte à 2400 avant J.C. (**Manner et al., 2005**). Les variétés chinoises d'agrumes se sont diffusées dans le monde entier par différents réseaux. Vers le premier siècle avant J.C., le citron, à l'origine cultivé en Chine, fut apporté en Iran puis dans les pays méditerranéens. D'autres variétés comme les oranges douces ont été exportées à l'étranger par les routes commerciales maritimes et terrestres.

Tableau 01 : Origines des espèces d'agrumes (**Thaman et Whister, 1996**)

Espèce (nom scientifique)	Nom commun	Pays natal
<i>Citrus aurantifolia</i>	Citronnier	La Malaisie
<i>Citrus aurantium</i>	Orange amère	L'Indochine et le Sud de la chine
<i>Citrus grandis</i>	Pamplemoussier	La Malaisie
<i>Citrus hystrix</i>	Citronnier rugueux	La Malaisie
<i>Citrus limon</i>	Citronnier	Le Sud- Est de l'Asie
<i>Citrus medica</i>	Cédratier	L'Inde
<i>Citrus mitis</i>	Calamondin	La Chine
<i>Citrus paradisi</i>	Pomelo	L'Ouest de l'Inde
<i>Citrus reticulata</i>	Mandarinier	Le Sud-Est de l'Asie
<i>Citrus sinensis</i>	Orange douce	L'Indochine et le Sud de la Chine

2. Taxonomie

D'après **Guignard (2001)**, la position systématique des agrumes se présente comme suit:

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicotylédones.

Sous classe : Rosidées.

Ordre : Rutales.

Famille : Rutaceae.

Genre : *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus*.

Le genre *Citrus* est subdivisé en sous genre *C. hystrix*, *C. papeda*, et *C. macroptera*. La différence entre eux se traduit par la présence de gouttelettes d'huile amère dans les vésicules des pulpes de *papeda* (**Stone, 1985**).

Elles s'identifient par leur appareil sécréteur constitué de poches sécrétrices d'un type particulier dites schizolysigènes (Figures 1 et 2) (leur formation résulte à la fois d'un écartement et de la multiplication des cellules, délimitant la cavité à l'origine de la poche, et d'une lyse des cellules les plus internes de celle-ci) ; ils ne sont rencontrés dans aucune autre famille (**Guignard, 2001**).



Figure 1 : Coupe d'une orange (on peut remarquer les petites poches d'huile essentielle).

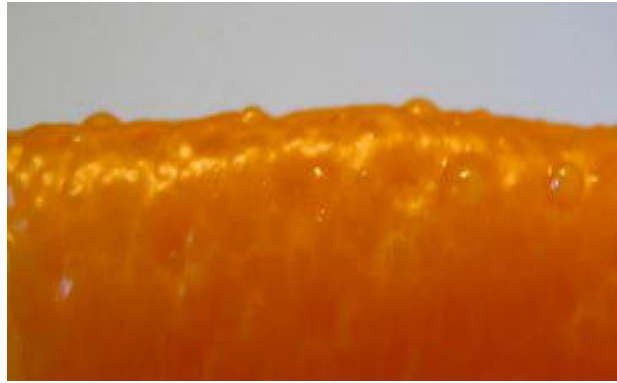


Figure 2 : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression.

3. Les principales variétés d'agrumes :

Les agrumes sont généralement des arbres ou arbustes de taille moyenne ; la plupart des grandes variétés sont dues à la sélection d'individus au sein de populations de semis ou greffes, chez lesquels sont relevés naturellement des caractères nouveaux.

Les modifications de leur constitution génétique sont dues principalement :

- à la ségrégation et à la recombinaison des caractères chez les plantes issues d'embryon gamétiques de variétés hétérozygotes ;
- à l'hybridation naturelle inter-variétés, interspécifique ou inter génétique ;
- aux mutations.

En outre, **Dosba (2002)** affirme que toute nouvelle variété doit subir un examen DHS: distinction-homogénéité-stabilité, qui a pour but de la distinguer des autres variétés (Tab. 02), connues par leurs propres performances.

Tableau 02: Critères de la classification botanique chez les agrumes (Manner et al., 2005).

Espèce (nom scientifique)	Nom commun	Taille d'épines
<i>Citrus aurantifolia</i> (Cristm)	Citronnier	Arbuste/petit arbre de 4m de hauteur, épineux.
<i>Citrus aurantium</i> L.	Orange amère.	Arbre de 10m de hauteur avec de courtes épines.
<i>Citrus grandis</i> L	Pamplemoussier	Arbre de 12 m de hauteur épineux.
<i>Citrus hystrix</i> DC	Citronnier rugueux	Arbre de 5 m de hauteur avec des courtes épines.
<i>Citrus limon</i> L	Citronnier	Arbre de 6 m de hauteur avec des épines dures.
<i>Citrus macroptera</i>	Montrouzier	Arbre de 5 m de hauteur avec des épines droites.
<i>Citrus medica</i> L	Cédratier	Arbuste de 3 m de hauteur.
<i>Citrus mitis</i> Blanco	Calamondin	Arbre de 12 m de hauteur, épineux.
<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Pomelo	Arbre de 15 m de hauteur.
<i>Citrus reticulata</i> Blanco.	Mandarinier	Arbre de 9 m de hauteur, généralement épineux.
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck	Orange douce.	Arbre de 12 m de hauteur, les tiges souvent épineuses.

4. Production des agrumes dans le monde :

Actuellement, la production mondiale d'agrumes est de l'ordre de 122 millions de tonnes. C'est la deuxième production fruitière derrière le groupe des bananes et plantains (125 millions de tonnes), loin devant la pomme (70 millions de tonnes). Les productions d'agrumes sont réparties en 4 groupes par la FAO. Il s'agit du groupe des oranges, de celui des pamplemousses et pomélos, du groupe des citrons et limes et de celui des petits agrumes qui regroupe les autres espèces commercialisées. Les oranges constituent la majeure partie de la production des agrumes (58%) suivi des citrons avec plus de 10%. Le reste de la production est partagé entre les pamplemousses, les pomélos et les autres petits agrumes (mandarines,

tangelos, tangors). Dans le groupe des oranges, les cinq plus grands producteurs mondiaux en 2009 sont le Brésil, les Etats-Unis, l'Inde, la Chine et le Mexique (**Loillet, 2010**).

5. Production des agrumes en Algérie

Des statistiques officielles estiment que l'agrumiculture est l'une des principales activités de l'arboriculture algérienne, elle représente 9,8% des surfaces arboricoles, occupant ainsi la quatrième place après l'olivier (35,9%), les espèces à noyaux (24,9%) et le palmier dattier (21,7%).

La région de la Mitidja, classée première dans le pays pour l'arboriculture, représente 37% de la production totale des agrumes en Algérie (**Sahraoui, 2007**).

A Tlemcen, le potentiel agrumicole est concentré essentiellement au niveau de la vallée de la Tafna (Remchi), Isser, dans la plaine de Hennaya, Chetouane et Maghnia (**DSA, 2014**).

6. Porte greffe chez les agrumes

L'utilisation des porte-greffes est revenue en agrumiculture moderne. Le porte-greffe classiquement utilisé jusque dans les années 50 dans les pays agrumicoles était le bigaradier ou oranger amer « *Citrus aurantium* », cependant, bien que le bigaradier soit en tant que tel tolérant à la tristeza ; maladie virale causant un flétrissement puis le dessèchement de la frondaison, il présente l'inconvénient lorsqu'il est utilisé comme porte-greffe, de ne pas conférer de résistance vis-à-vis de cette maladie à l'association greffon/porte-greffe (**INRA, 2002 ; Jacquemond et al., 2002**).

De nouveaux porte-greffes doivent donc être recherchés et comporter des tolérances ou des résistances à certains facteurs biologiques et pédoclimatiques. Ils doivent également apporter une amélioration conséquente sur les qualités suivantes :

- mise à fruit rapide, allongement de l'époque de maturité, productivité (augmentation du rendement et du calibre des fruits) ;
- qualités organoleptiques et souplesse des techniques culturales du verger (taille, irrigation, fumure, durée des travaux). Une bonne résistance à la gommose ;
- association greffon/porte-greffe tolérant à la tristéza ;
- adaptation à une large gamme de type de sols ;
- Multiplication et élevage facile en pépinière.

7. Etude de la plante hôte :

Pour notre étude, nous présentons l'espèce *Citrus sinensis* Osbeck (orange douce) qui fait l'objet de notre étude. La variété Washington navel est originaire de Bahia au Brésil «introduite à Washington en 1870». Ses fruits sont de 7 à 10 cm de diamètre, avec une écorce orange foncée aromatique, elle est sucrée et sans pépins. Ses fleurs blanches sont très parfumées ; la maturité des fruits a lieu en fin novembre-décembre.

7.1. Morphologie :

7.1.1. Racines :

Chez les agrumes, le système racinaire occupe plus de 70% de la taille de l'arbre. Les racines ont un pivot qui peut dépasser de 2 m au-dessous de la surface. Ces racines fibreuses se prolongent généralement bien au-delà de la canopée (écran formée par la partie supérieure de la végétation du verger) (Walter *et al.*, 2002).

7.1.2. Tronc :

Praloran (1971) signale que les agrumes présentent habituellement un tronc presque cylindrique et parfois un aspect de colonnes entre elles.



Figure 3 : photo d'un oranger

7.1.3. Feuilles :

Les feuilles sont simples ou composées, sans stipule, éparses ou opposées. Un de leurs caractères communs est la présence de glandes oléifères qui apparaissent par transparence comme des points translucides. Toutes les parties de la plante possèdent en outre des tissus sécrétant des huiles essentielles, à odeurs aromatiques.

7.1.4. Fleurs:

Les fleurs généralement régulières et hermaphrodites, sont formées par 4 ou 5 pétales (blanches), généralement libres, les carpelles sont soudées en un gynécée à ovaire pluriloculaire supérieur, parfois inférieur (**Fig .4**).



Figure 4 : fleur de *Citrus sinensis* L.

7.1.5. Fruits :

Les fruits sont sphéroïdaux ou ovales (**Fig. 5**), en les sectionnant on peut observer :

- Un épicarpe : rugueux, robuste, jaune qui entoure et protège le reste du fruit. Cet épicarpe est riche en glandes lysogènes qui contiennent une huile aromatique essentielle volatile, d'une saveur citrique, composées de phéllandrène, limonène...
- Un mésocarpe : parenchymateux, blanc, consistant, qui est relié étroitement à l'épicarpe, formant la peau ou l'écorce. Le mésocarpe contient quelques glycosides, comme la linranine et la citrine et les flavonoïdes qui déterminent la vitamine P, le glucose et quelques acides organiques tels que l'acide citrique.

- Un endocarpe : charnu est divisé en 7 à 14 segments, séparés par des septas minces « cloisons des segments », chaque segment contient des pulpes « vésicules à jus » qui contiennent un jus acide et parfois sucré (INRA, 2005).



Figure 5 : feuilles et fruits de *Citrus sinensis*.

7.1.6. Graines :

Elles sont blanches à verdâtres, aplaties et angulaires. Elles sont généralement polyembryonnées, signifiant que plusieurs embryons peuvent germer à partir d'un seul ovule fécondé. Les embryons sont zygotiques ou nucellaires (qui a rapport au nucelle). Les embryons zygotiques sont issus de la pollinisation de l'ovaire, c'est-à-dire de la production sexuée, donc leurs qualités horticoles ne sont pas toujours semblables avec celles de l'arbre parent, tandis que les embryons nucellaires sont complètement issus de la plante mère et présentent des caractéristiques similaires avec celles de l'arbre parent.

Les graines ont une importance majeure pour la détermination et la classification de la variété (Manner *et al.*, 2005).

8. Ecologie et phénologie des agrumes :

8.1. Ecologie

- Les agrumes présentent une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. La culture des agrumes est possible partout où la température moyenne de l'année est supérieure à 13°C et inférieure à 39°C. Les agrumes préfèrent les

climats maritimes des zones subtropicales. En terme de besoins en eau, 120 mm par mois, soit 1200 à 1500 mm par an, représentent une quantité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes nécessite une irrigation (**Vernière *et al.*, 2003**). La lumière a une action très remarquée sur la qualité et la coloration des fruits. Les arbres fruitiers sont plus exigeants sur les caractéristiques physiques du sol et non sur les caractéristiques chimiques qui peuvent être corrigées par des apports d'engrais et d'amendements. Les sols doivent être profonds et de préférence légers (sablo-argileux ou argilo-sableux), bien drainés. Les agrumes redoutent les eaux salines (au-dessus de 0,5%). Le pH idéal est situé entre 5,5 et 7,5 (**Walali Loudyi *et al.*, 2003 ; Van Ee, 2005**). C'est à cet effet que le choix du porte-greffe est un des facteurs essentiels de réussite car il peut conférer à la plante une tolérance à des maladies et à des contraintes abiotiques (salinité, pH, froid, sécheresse, calcaire...). L'optimum d'altitude pour un bon développement des agrumes se situe entre 1000 et 1300 m car ces derniers ne doivent pas être trop exposés aux vents.

Loussert (1989) signale qu'au-dessous de 800 m, les fruits manquent de saveur. La peau des oranges reste verte, les cloisons deviennent plus épaisses.

8.2. Phénologie

Le développement de la frondaison des agrumes se fait sous forme de flux végétatif ou poussée foliaire (flush). Ces flux végétatifs succèdent à des périodes d'arrêt végétatif. Ce phénomène s'observe même en climat tropical humide où les conditions permettent une activité végétative continue (**Praloran, 1971**). Il existe généralement trois flux végétatifs par an. Ils commencent avec le début des pluies. Le premier flux, qui est de loin le plus important (longueur et nombre de rameaux émis), débute en mars avec le retour des pluies. Le second se fait au mois d'août, il est également déclenché par le retour des pluies. Le dernier survient en octobre.

9. Principales maladies des agrumes :

9.1. Désordres physiologiques

- **Les fentes des fruits** : observées chez les fruits à peau mince tels que les mandarines, provoquées par le climat, le manque d'irrigation et de fertilisation (**Tucker *et al.*, 1994**).
- **Le pourrissement des racines** : causé par l'irrigation excessive des arbres qui résulte du manque d'oxygène dans les racines (**Manner *et al.*, 2005**).

- **La carence en minéraux** : la pluie et l'irrigation excessives causent cette carence, ainsi que l'utilisation inappropriée des engrais (**Vernière et al., 2003**).

9.2. Maladies bactériennes :

- **La galle** : l'infection provoque une petite bosse sur un côté de la feuille et une dépression sur l'autre côté ; ensuite des pustules brunes vont se former sur la peau du fruit devenant subéreuses pendant leur développement, causées par *Elsinoe fawcetti*.
- **Les tâches noires** : infectés par *Guignardia citricarpa* qui touche les feuilles et les fruits, les symptômes de cette maladie ne sont pas observés à l'œil nu et les fruits deviennent non commerciabiles (**Manner et al., 2005**).
- **Citrus canker (le chancre)** : les symptômes de cette maladie se traduisent par des fentes sur les jeunes feuilles et les fruits provoquées par la bactérie *Xanthomonas axonopodis Citri* (**Swarup et al., 1991**).
- **Citrus greening** : provoqué par une bactérie appartenant aux *Liberobacter* qui se développe dans l'écorce, les feuilles et les nervures des arbres ; le fruit reste de couleur verte d'où le nom « greening ».

9.3. Maladies virales :

- **Tristeza** : le virus de la *Tristeza* est l'un des agents pathogènes les plus virulents des agrumes qui provoque une croissance retardé, des tiges trouées, des feuilles abimées et des fruits jaunes avec une taille réduite (**Manzanero, 2004**).

9.4. Maladies cryptogamiques

Les agrumes sont exposés à une large gamme de maladies cryptogamiques qui peuvent affecter les fruits :

9.4.1. Moisissures des fruits :

En dehors des pourritures brunes ou noires des fruits (*Colletotrichum*, *Ploespora* et *Alternaria*), leur importance économique n'est pas très grande, car les dégâts sont limités aux plantations situées en terrains argileux et humides.

➤ *Aspergillus sp.*

Les pourritures à *Aspergillus sp.* peuvent toucher toutes les variétés d'agrumes ; elles se développent préférentiellement en entrepôt lorsque les températures sont supérieures à 15°C. L'espèce *Aspergillus niger*, la plus fréquente, provoque une pourriture molle épidermique et est accompagnée d'une odeur caractéristique de fermentation. Initialement de couleur claire, elle se couvre ensuite d'amas de spores noires (**Fig.6**).

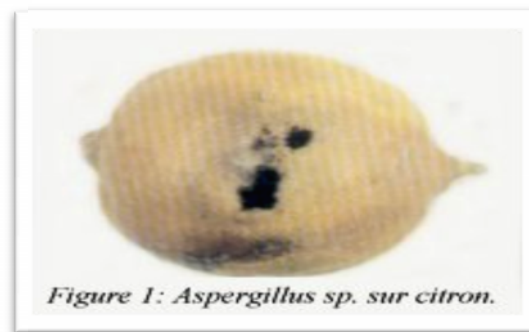


Figure 6 : *Aspergillus sp.* sur citron (Anonyme, 2000)

➤ *Alternaria sp.*

Les spores d'*Alternaria sp.* sont présentes toute l'année dans les vergers ; on les retrouve fréquemment dans les entrepôts. C'est un pathogène des blessures (grattage d'épiderme, plaie de coupe du pédoncule...), mais il pénètre surtout dans les fruits par les ouvertures naturelles (ombilic, cicatrice stylaire, craquelures de base du pédoncule...).

Sur l'épiderme il provoque une pourriture noire, molle, déprimée et entourée d'une bordure brunâtre (**Fig.7**) qui se développe en entrepôt même à des températures basses.

Dans le fruit, il colonise l'axe central et les quartiers ; les tissus noircissent. Cette pourriture interne se développe au verger et en entrepôt ; elle est indécélable à la cueillette. Les oranges Navel, les mandarines et les citrons sont les variétés les plus souvent atteintes. Les fruits, même faiblement contaminés, sont impropres à la consommation et à la fabrication de jus (**Moreau, 1974**).

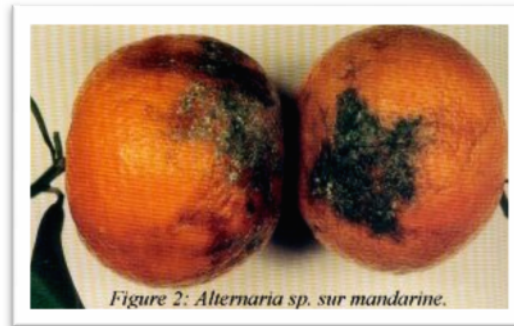


Figure 7 : *Alternaria sp.* sur mandarine (Mazih *et al.*, 2007).

➤ ***Cladosporium herbarum***

Ce pathogène est devenu fréquent sur de nombreuses variétés d'agrumes, en Espagne notamment. Il est présent sur différents débris végétaux en décomposition dans les vergers, et contamine les fruits pendant la cueillette.

Son action est similaire à celle d'*Alternaria* : il colonise les blessures de l'épiderme, la zone stylaire, l'ombilic des variétés Navel et la base des pédoncules. Sur la peau, il provoque une nécrose brunâtre souple qui se recouvre progressivement d'un mycélium gris-vert. Dans la zone stylaire, il reste superficiel mais les attaques pédonculaires précoces envahissent ensuite l'axe central.

➤ ***Geotricum candidum***

Ce champignon induit l'une des plus importantes et des plus nauséabondes pourritures des agrumes (pourriture amère). Elle s'observe sur toutes les variétés, mais plus fréquemment sur les groupes des citrons et des pomelos. C'est un champignon du sol qui contamine les fruits tombés à terre ou en contact avec des particules de terre souillant les caisses de récolte, lors des périodes pluvieuses.

Les parties atteintes sont rapidement molles, aqueuses et de couleur claire (**Fig.8**). L'épiderme, les cloisons et les vésicules à jus sont entièrement dégradés, et le fruit se transforme en une bouillie coulante, sale, d'odeur indésirable mais attractive pour les mouches du vinaigre (drosophiles). La contamination s'étend de fruit en fruit, au cours du stockage. (Mazih *et al.*, 2007).

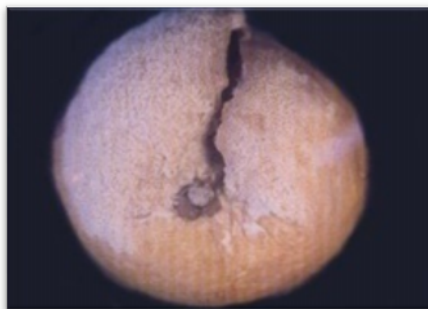


Figure 8 : *Geotricum candidum* sur orange (Mazih *et al.*, 2007)

➤ ***Penicillium digitatum* (pourriture verte) et *Penicillium italicum* (pourriture bleue)**

Ces deux *Penicillium* sont responsables de plus de 80 % des pourritures des agrumes ; toutes les espèces et variétés y sont sensibles. Ces champignons existent dans le monde entier. Ils sont présents en permanence et tout au long de la chaîne, depuis le verger jusqu'aux réfrigérateurs domestiques, en passant par les stations d'emballage, les véhicules de transports, les entrepôts, les magasins de demi-gros et les détails.

Ces deux espèces sont systématiquement associées, mais leurs biologies diffèrent par leurs modes d'infection et par les symptômes qu'elles provoquent (Mazih *et al.*, 2007).

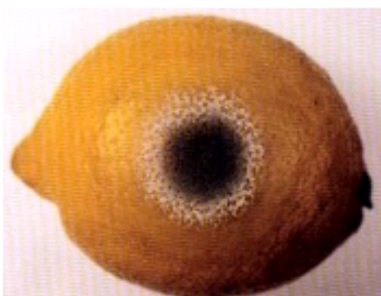


Figure 9 : *P. italicum* sur citron **Figure 10 :** *P. digitatum* sur mandarine (Mazih *et al.*, 2007)

Penicillium italicum est responsable de " la pourriture bleue "(Fig.9) des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores. C'est un parasite des épidermes intacts, plus redoutable de ce fait que *P. digitatum*. Ses spores sont présentes tout au long de la chaîne, de l'emballage à la consommation. L'épiderme atteint s'éclaircit, devient mou, puis un duvet mycélien blanc apparaît, qui se couvre rapidement de spores bleues. La chair est simultanément contaminée et le fruit, même partiellement atteint, devient inconsommable.

Les spores sont facilement transportées d'un fruit à l'autre, et la pourriture se propage aussi directement par contact. Aux températures basses d'entrepôt, son activité est supérieure à celle de *P. digitatum*. Les deux espèces peuvent cohabiter sur un même fruit, *P. italicum* venant parfois se surimposer à *P. digitatum*, mais jamais l'inverse.

Penicillium digitatum est responsable de " la pourriture verte "(**Fig.10**) des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores qui, en fin d'évolution, couvrent la totalité des fruits atteints. C'est strictement un parasite de blessures, ne pouvant pénétrer les épidermes intacts. Les possibilités de contamination au verger existent, mais l'essentiel des infections survient à la récolte, à l'emballage et dans les étapes suivantes de la commercialisation et de la consommation.

Au début, les zones atteintes de l'épiderme s'éclaircissent légèrement, deviennent molles, puis il se développe un fin mycélium blanc vif, à accroissement régulier et circulaire, dont le centre se couvre de spores vertes.

En fin d'évolution, les spores vertes recouvrent la totalité du fruit ; l'épiderme, flavedo et albédo, et la pulpe sont entièrement envahis. Dès le début de l'infection, le fruit a une saveur indésirable.

➤ *Trichoderma viride*

C'est un agent fréquent et important des agrumes entreposés. Il colonise de préférence les blessures profondes de l'épiderme. Il induit, autour du point de pénétration, une large zone brune, souple au toucher, qui se couvre progressivement d'un mycélium blanc, ponctué ensuite de petits amas de spores vert émeraude plus au moins foncés.

L'odeur des fruits atteints rappelle celle de la noix de coco. Présent en permanence dans les sols de vergers, il contamine les fruits en contact avec des particules de terre au moment de la récolte.

9.4.2. Pourrissement des racines et gommose :

Dû à (*Phytophthora citrophthora* ; *P. parasitica* ; *P. palmivora*). Le champignon *Phytophthora* provoque la pourriture des racines qui empêche l'absorption de l'eau et des minéraux. Ce

champignon peut affecter aussi l'écorce et le cambium qui commencent à sécréter une sorte de gomme claire, cette maladie est appelée « gommose » (**Christien *et al.*, 2002**).

Christien *et al.* (2002) ajoutent que les maladies fongiques (gommose...) peuvent entraîner des pertes de récolte importantes ainsi que le dépérissement de l'arbre.

➤ ***Phytophthora sp.***

N'importe quelle espèce du genre *Phytophthora* inféodée aux agrumes, peut occasionner ce qu'on appelle communément "la pourriture brune à *Phytophthora*".

En principe, les fruits de toutes les variétés peuvent être infectés, mais il existe quelques légères différences de sensibilité. Ainsi les oranges se révèlent être plus souvent atteintes que les citrons ou les mandarines.

Toutes les espèces de *Phytophthora* provoquent les mêmes symptômes. Ils s'expriment au début par une décoloration ponctuelle de la peau, vert clair sur les citrons non mûrs, brun clair sur les oranges à maturité. Ensuite la zone nécrosée s'étend et se colore de différentes teintes, plus ou moins foncées de brun (**Fig. 11 et 12**), selon les fruits. En entrepôt, un fin feutrage mycélien blanc apparaît dans les zones brunes atteintes.

Au verger, les fruits, surtout ceux situés sur les branches basses, sont infectés par les éclaboussures de pluie ou par les irrigations sous frondaison entraînant les spores.

Au conditionnement, les eaux de lavage sont souvent contaminées. En entrepôt la pourriture s'étend de fruit en fruit par contact. (**Chouibani *et al.*, 1997**).



Figure 11 :*Phytophthora sp.* sur orange **Figure 12:** *Phytophthora sp* sur orange

(**Chouibani *et al.*, 1997**)

- **Les tâches graisseuses** : cette maladie touche les régions chaudes et humides, elle est causée par le champignon *Mycosphaerella citri* responsable des fentes brun- noirâtres au niveau de la partie antérieure des feuilles et d'autres très petites sur la peau du fruit.

10. Principaux ravageurs :

Les principaux ravageurs des agrumes sont les mouches de fruits (*Diptera, Tephritidae*), les thrips (*Scirtothrips* spp.), les cochenilles (*Aonidiella* spp., *Unaspis* spp., ...), les pucerons (*Aphisgossypii* et *Toxoptera citricida*), les aleurodes ou mouches blanches et les psylles (*Diaphorinacitri, Tryzaerytrae*). Ils causent divers dégâts sur les plantes. Certains se nourrissent aux dépens de la plante entraînant des déformations des feuilles et fruits (pucerons, cochenilles, psylles) ; d'autres sécrètent des substances toxiques pour la plante pouvant attirer des fourmis et provoquer le développement des fumagines (**Rey et al., 1986; Loussert, 1989**). Ce sont également des vecteurs de maladies à virus comme la tristezza (*Citrus Tristeza Cloterovirus*) transmis par les pucerons. Le greening véhiculé par les psylles est causé par une bactérie des espèces *Liberibacter africanum* et *L. asiaticum*. (**Aubert, 1988,1992 ; Rey et al., 1986 ; Mariau, 1999 ; Tamesse et al., 2002**).

PARTIE II : PRESENTATION DU PHYTOPHAGE***CERATITIS CAPITATA*****1. Présentation de la mouche méditerranéenne :**

La mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Wiedemann), généralement appelée Medfly en anglais, est l'un des phytoparasites les plus destructifs au monde, qui touche les vergers de fruits (Thomas et al., 2001). Elle constitue l'un des principaux ravageurs d'importance économique pour les diverses familles botaniques et les cultures fruitières (Duyck, 2005).

Elle a été découverte par Wiedemann en 1824 et considérée comme parasite des agrumes en 1829 (Wiedemann, 1829).

2. Taxonomie :

Selon Hendel (1927), Seguy (1934), Constantino (1950) et Duyck et al. (2005), *Ceratitis capitata* est positionnée comme suit dans la systématique :

Embranchement : Arthropoda ;

Classe : Insecta ;

Ordre : Diptera ;

Sous ordre : Brachycera ;

Division : Cyclorrhapha ;

Groupe : Schizophora ;

Super famille : Trypetidea ;

Famille : Tephritidae ;

Genre : *Ceratitis* ;

Espèce : *Ceratitis capitata*.

3. Origine et aire de répartition :

La mouche méditerranéenne des fruits est le plus important ravageur des fruits dans le monde entier (**Boudjlida et Soltani, 2011**). C'est une espèce très polyphage qui s'est établie dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales.

Des études récentes sur ses plantes hôtes et parasitoïdes, ainsi que l'analyse des microsattellites ont permis de confirmer qu'elle serait originaire de l'Afrique du Sud-Est (**Bonizzoni et al., 2000 ; De Meyer et al., 2004**).

La cératite est une espèce cosmopolite. **Cayol et al. (2002)** ont rapporté qu'elle a réussi à se disperser à travers les cinq continents en moins de 150 ans (**Figure 13, Tableau 03**).

Cette large dispersion est due à la rapidité des transports ainsi qu'à l'augmentation des échanges internationaux des produits agricoles, ainsi qu'à sa grande capacité d'adaptation aux différents types de climats grâce à sa variabilité génétique.

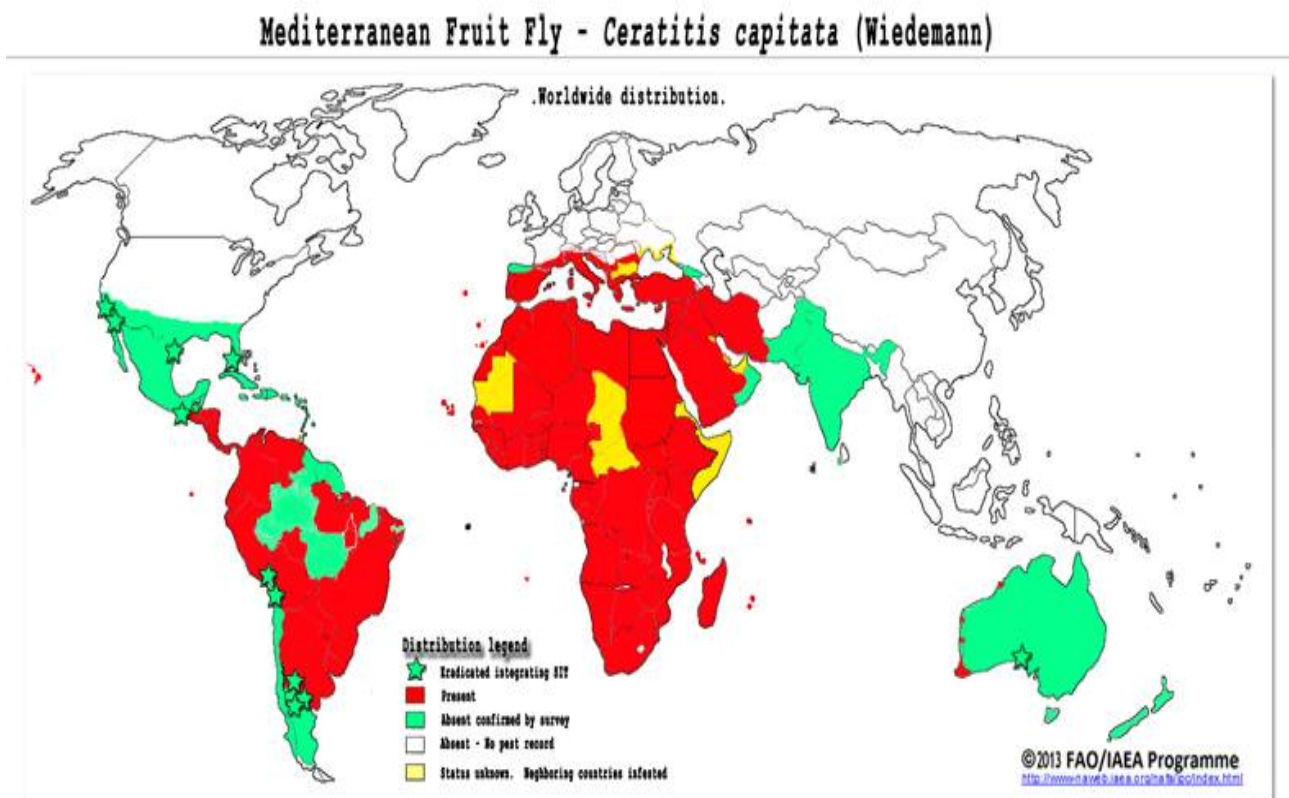


Figure 13 : aire de distribution actuelle (décembre 2013) de *Ceratitis capitata* (Wied.).
(F.A.O. 2013)

Tableau 03 : Dates d'apparition et de répartition de *Ceratitis capitata* dans le monde (Harris, 1984).

Contrées ou Continents	Pays	Année d'apparition
Afrique	Algérie	1858
	Tunisie	1885
	Afrique du Sud	1889
	Egypte	1904
Europe	Espagne	1842
	Italie	1863
	Sicile	1878
	France	1900
	Turquie	1904
Proche Orient	Liban	1904
	Palestine	1904
Pacifique	Australie	1898
	Tasmanie	1900
Amérique du Sud	Brésil	1901
	Argentine	1905
	Paraguay	1955
	Pérou	1956
	Chili	1963
Amérique centrale	Costa Rica	1955
	Nicaragua	1961
	Panama	1963
	Salvador	1975
	Guatemala	1975
	Equateur	1976
	Mexique	1977
Amérique du Nord	Hawaii	1910
	Floride	1929
	Texas	1966
	Californie	1975

4. Principaux caractères morphologiques :

4.1. Oeuf

Les œufs de la cératite sont blancs, allongés et légèrement arqués (**Fig. 14**) ; leur longueur atteint 1mm et leur diamètre est de 0,20 a 0,25 mm (**Nunez, 1987 ; Elaini, 2003**). Ils sont lisses et groupés lors de la ponte sous l'épiderme des fruits à une profondeur de 2 à 5 mm (**Filippi, 2003**).



Figure 14 : œufs de *C. capitata* (**Khimoud et Louni , 2008**)

4.2. Larve

La larve du premier stade est transparente et mesure 1mm. A ce stade, le squelette céphalopharyngien n'est pas mélanisé.

Au deuxième stade, les individus deviennent partiellement transparents et présentent la couleur de l'aliment ingéré. Leur taille est variable et la base des crochets buccaux est mélanisée.

Lorsque le développement est achevé, la larve atteint 7 à 9mm. Ceci dépend de la quantité et de la qualité de la nourriture ingérée ; à ce stade, les crochets buccaux sont totalement pigmentés. Les nutriments dont les larves se nourrissent sont les glucides, les protéines et l'eau ; ils sont tirés du milieu dans lequel elles se développent, c'est-à-dire la pulpe du fruit (**Duyck, 2005**).

Le dernier stade se distingue, aussi des autres, par son comportement. La larve se livre à une série de petits sauts qu'elle exécute et quitte ainsi le fruit.

4.3. Pupa

Elle a la forme d'un petit tonnelet lisse, résistant et mesurant 4 à 4,5 mm de longueur et 2 mm de diamètre (Orts et Giraud, 2006). La couleur est claire pour les jeunes pupes et brune foncée pour les pupes âgées.

4.4. Adulte

C'est une mouche qui mesure entre 4 et 5 mm de long (Duyck, 2000). Sa tête est grosse, jaune, avec une bande brune claire entre les deux yeux à reflet vert émeraude. Le thorax est noir à prunosités dessinant des bandes argentées ou grises.

Les ailes présentent des colorations typiques en bandes et des taches noires, se différenciant de n'importe qu'elle autre espèce des mouches des fruits (Weems, 1981 ; Vayssiers et al., 2008).

L'abdomen est brun jaunâtre avec des bandes transversales grises. Les ailes sont larges et présentent trois bandes orangées.

Le mâle et la femelle sont facilement distinguables grâce à deux caractéristiques morphologiques ; le mâle est muni de soies céphaliques orbitales noires et aplaties en lamelle à l'apex dont le rôle est inconnu. La femelle possède une tarière de ponte bien visible (oviscapte) (Duyck, 2005). La figure 15 montre un mâle et une femelle ainsi que la différence au niveau de l'extrémité abdominale entre les deux sexes.

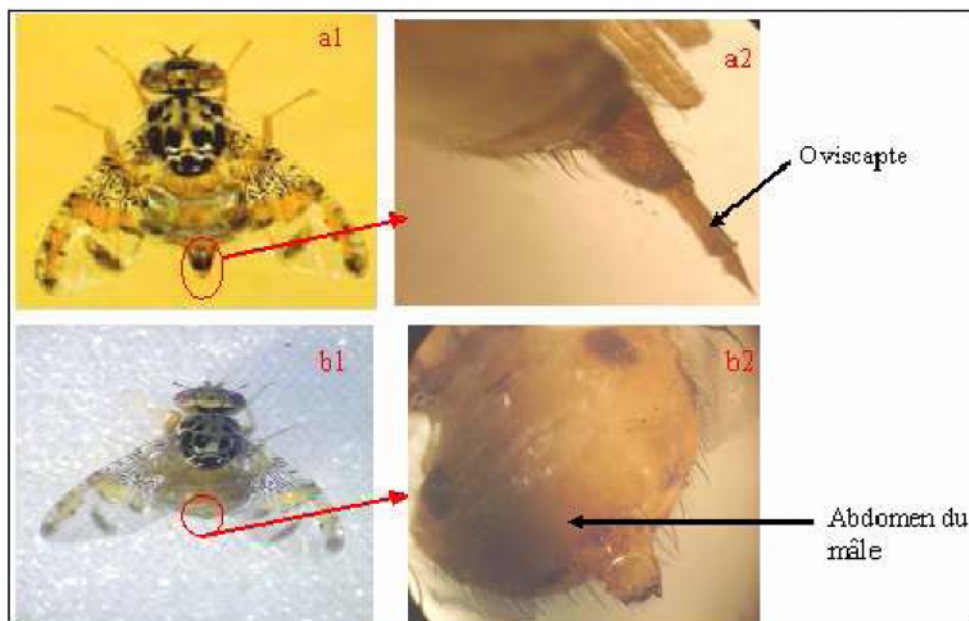


Figure 15 : adulte de la cératite (a1 et a 2 : femelle ; b1 et b2: mâle) (Rigamonti, 2005).

5. Cycle de développement :

Le cycle de développement de la cératite est résumé dans **la figure 16**.

5.1. Ponte et incubation :

Les femelles font pénétrer leur ovipositeur jusqu'à une profondeur approximative de deux millimètres (**Filippi, 2003**). Elles déposent entre 5 et 10 œufs par fruit. De plus, elles sont capables d'effectuer plusieurs pontes jusqu'à ce que le nombre total d'œufs pondus atteigne 300 à 400 œufs (**Atcitrus, 2002**).

Le trou de ponte est facile à remarquer sur quelques fruits (agrumes et abricots).

L'incubation des œufs est de 2 à 5 jours en été et plus de 20 jours en hiver.

5.2. Développement larvaire :

La durée du développement larvaire, qui comprend trois stades (L1, L2, L3), peut varier fortement pour une espèce donnée en fonction du fruit hôte.

La larve de troisième stade ou « asticot » quitte le fruit par une brusque détente. Elle retombe sur le sol dans lequel elle s'enfonce pour se nymphoser, donnant alors une puppe. Cette transformation ne dure que quelques heures (**Duyck, 2005**).

De cette puppe émerge un adulte qui recommence le cycle à nouveau (**Sadoudi, 2007**).

D'après **Delrio (1985)**, la durée du cycle de développement de la cératite dans la zone méditerranéenne varie de 20 jours en été à 2 ou 3 mois en hiver.

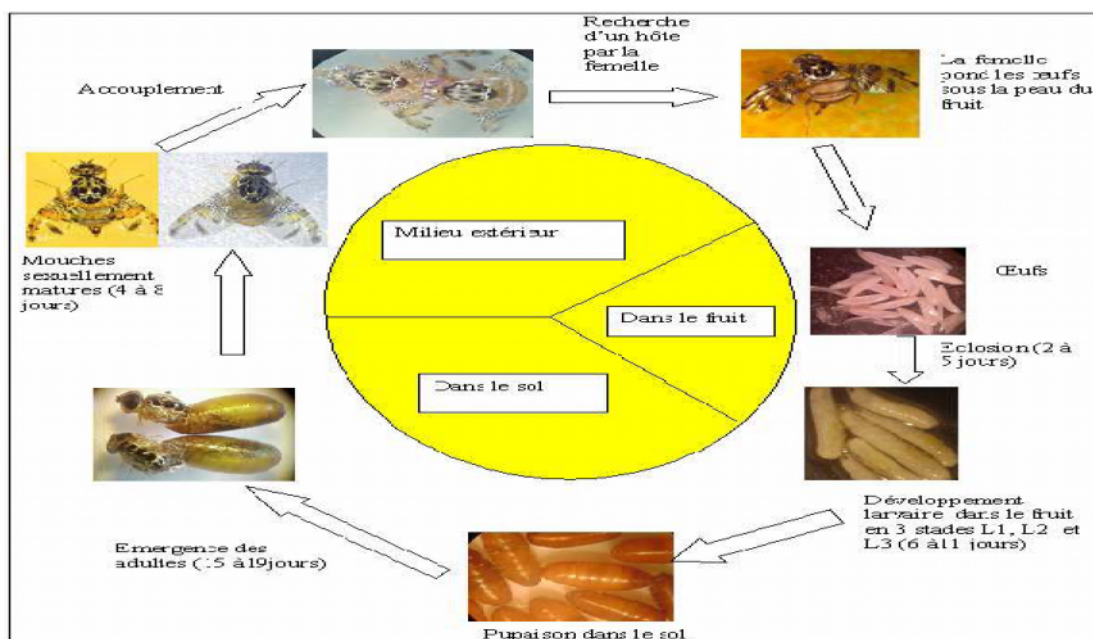


Figure 16 : Cycle de développement de *C. capitata* (**Khimoud et Louni, 2008**).

6. Nombre de générations :

L'évolution complète de la cécidie est très variable pour une même région. Elle dépend des facteurs climatiques, particulièrement la température mais également des espèces fruitières sur lesquelles ont lieu les pontes (**Khoury, 1998 ; Ramade, 2003**).

Ainsi, on dénombre 12 à 13 générations de cécidies à Honolulu, 12 à Calcutta, 9 au Caire, 6 à 7 dans le Sud de l'Italie, 5 sur le littoral algérien, 3 ou 4 à Nice et 2 dans la région parisienne (**Balachowsky et Mesnil, 1935**).

Oukil (1995) a résumé le nombre de générations possibles en Algérie comme suit (**Fig. 17**):

- La première génération qui a lieu en mars-avril ne se trouve que sur les oranges tardives;
- la deuxième génération est composée d'individus peu nombreux et passe presque inaperçue au cours du mois de mai;
- la troisième génération apparaît en juillet où on assiste à des pertes sur des fruits à noyaux (pêche, abricot, prune);
- la quatrième génération s'étale de la fin août jusqu'au début du mois de septembre ;
- les deux dernières générations se développent sur les agrumes.

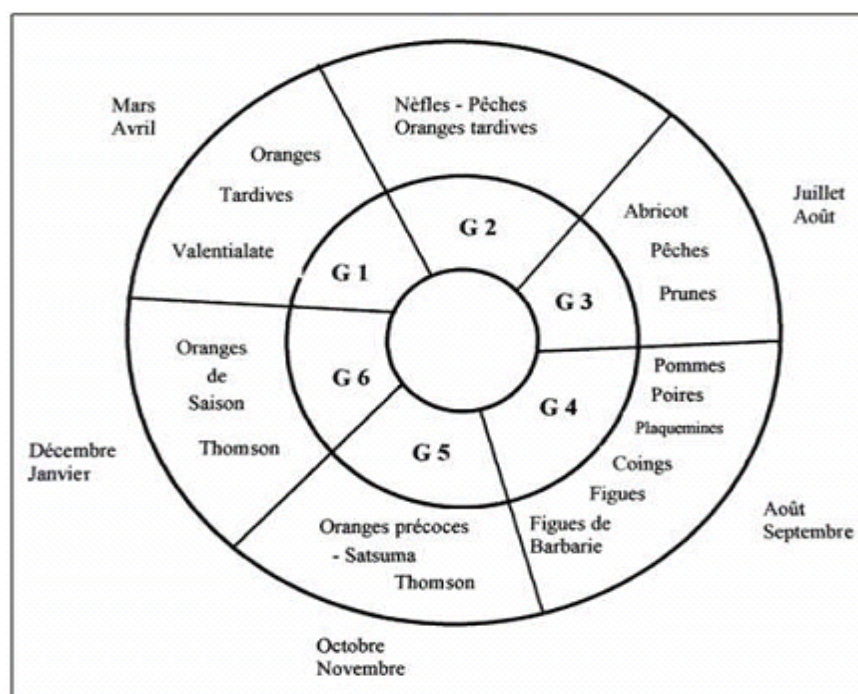


Figure 17: Schéma représentant le nombre de générations possibles en Algérie (**Oukil, 1995**).

6. Dégâts causés par la cératite :

La cératite, ravageur polyphage, est caractérisée par la ponte dans les fruits après leur véraison jusqu'à la maturité complète. Ceci fait que les époques d'infestation coïncident avec la chronologie de maturation des espèces (**Lachiheb, 2008**).

Les dommages causés par la cératite sont des piqûres de pontes et des galeries dans les fruits engendrées respectivement par les femelles et les larves.

En outre, ces galeries et ces piqûres constituent une voie de pénétration à des champignons et des bactéries, responsables de la décomposition et la chute prématurée des fruits. Ces dégâts constituent un obstacle majeur pour les exportations en raison de la dévalorisation de la marchandise et des mesures de quarantaine imposées par certains pays importateurs.

La cératite s'attaque aux variétés précoces et tardives et celles à peau mince (**Chouibani, 2003**).

8. Lutte :

La méthode de lutte contre la cératite repose sur le piégeage de masse à l'aide d'attractifs spécifiques des femelles ou attractifs alimentaires et insecticides (**Quillici et al., 2002**).

8.1. Lutte chimique :

Pour faire face aux dégâts provoqués par la cératite, la lutte est basée sur des interventions répétées utilisant des insecticides de contact (Malathion, Fenthion, Deltaméthrine) malgré les conséquences sur les équilibres biologiques et sur l'insecte lui-même qui développe des phénomènes de résistance (**Lekchici, 1982**).

Afin de réduire l'utilisation de pesticides pour une meilleure protection de l'environnement, il est recommandé l'application de pulvérisations localisées auxquelles est adjoint un attractif alimentaire et /ou sexuel.

Ces dernières années, un mélange de Spinosad, substance d'origine naturelle, et d'un attractif alimentaire incorporé à la matière active, a permis d'abaisser significativement le niveau de

la population de la cératite. Ce mélange présente l'avantage d'être moins toxique à l'égard d'organismes non-cibles (**Vergoulas et al., 2002**).

8.2. Lutte biotechnologique :

C'est une lutte qui consiste à faire des lâchers massifs de mâles stérilisés aux rayons gamma de l'espèce en question dans la nature, où ils rentrent en compétition avec les mâles naturels, la descendance est alors stérile, cette technique a été utilisée contre *Ceratitis capitata* au Costa Rica, en Espagne, en Italie, au Mexique, au Nicaragua, au Pérou et en Tunisie.

L'avantage important de cette méthode est la protection de l'environnement vu que les agriculteurs vont éviter la lutte chimique, sans compter les charges qui seront diminuées.

8.3. Lutte biologique :

La lutte biologique est de tradition séculaire (prédation de la cochenille *Icerya purchasi* par une mouche sur les agrumes de Californie vers 1890), elle a été formalisée avec la création d'une organisation non-gouvernementale lors du Congrès International d'Entomologie de Stockholm en 1948.

Aussi, la lutte biologique représente un champ d'application pour un grand nombre de disciplines scientifiques et techniques classiques de la protection des cultures, dont les premières furent la phytopathologie et l'entomologie agricole (**Sforza et Sheppard, 2004**).

8.3.1. Lutte par les prédateurs :

Wong et al., en 1984 ont utilisé au laboratoire la fourmi *Irydomyrmex humilis* qui a provoqué 50% de mortalité au bout de dix minutes d'attaque pour 7 fourmis /larve.

Eskafi et Kolbe (1990) signalent la prédation par la fourmi *Solanopsis geminata* qui consomme 7 à 25 % des larves de *C. capitata* dans les vergers de caféiers et d'orangers ; aux conditions naturelles, cette prédation est influencée par la température et l'heure de la journée.

8.3.2. Lutte microbiologique :

La microsporidie *Octosporea muscaedomestica* est à l'origine d'une grande mortalité chez la mouche méditerranéenne *C. capitata* et *Bactrocera oleae* au laboratoire, mais son application reste hypothétique aux conditions naturelles (**Ormières et al., 1977**). Cette microsporidie contamine les stades larvaires du phytoparasite et les tue 5 à 7 jours après l'infestation.

8.3.3. Lutte parasitologique :

Elle se fait par l'utilisation d'insectes parasitoïdes qui ont un comportement intermédiaire entre les parasites et les prédateurs puisqu'ils ont besoin d'un autre organisme pour se développer et qu'ils tuent toujours les hôtes qu'ils attaquent (**Godfray, 1994**). Le succès reproducteur de ces organismes dépend directement du nombre et de la qualité des hôtes qu'ils exploitent au cours de leur vie.

En Algérie, le Braconidae *Opius concolor* semble être le parasitoïde naturel de ce ravageur comme le signalent les travaux effectués à Tlemcen par **Gaouar en 1991, Hassani en 2003 ; Selka en 2006 et Bensenouci en 2008**.

PARTIE III : POUVOIR ALLELOPATHIQUE DES CITRUS CONTRE LES AGRESSIONS PHYTOPATHOGENES

1. Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées.

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques : tanins et flavonoïdes) qui sont inégalement répartis chez les plantes (**Macheix et al., 2005**).

L'allélopathie est l'ensemble de plusieurs interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre ou sur des micro-organismes et parasites pathogènes au moyen le plus souvent de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Rice, 1984**). Lorsque ces interactions sont négatives, on parle d'amensalisme.

Ces composés allélochimiques jouent un rôle important dans la compétition aux ressources environnementales que sont l'eau, la lumière et les substances nutritives ; dans l'armement chimique de défense des plantes contre leurs prédateurs, et dans la coopération intra- et interspécifique (**Dobremez et al., 1995**).

L'incorporation de ces substances allélopathiques dans la gestion de l'agriculture peut réduire l'utilisation d'herbicides, de fongicides et d'insecticides ; diminuant ainsi la détérioration de l'environnement (**Worsham, 1991**).

Le terme d'allélopathie a été introduit pour la première fois par Hans Molisch, scientifique autrichien spécialiste de la photosynthèse, en 1937, pour décrire les interactions biochimiques néfastes et bénéfiques entre tous les types de plantes incluant les micro-organismes. Le terme resta ignoré jusqu'à ce que l'écologue américain Elroy Leon Rice l'utilise à nouveau au début des années 1960 pour expliquer la rapide disparition des herbes pionnières dans les champs abandonnés en Oklahoma puis, lorsqu'en 1984, il renforce cette définition dans sa monographie sur l'allélopathie (la première sur ce sujet) : « **Tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante (micro-organismes inclus) sur une autre, par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement** ».

Ces composés biochimiques sont appelés composés allélochimiques. Ils peuvent être classés en grande partie comme métabolites secondaires, qui sont généralement considérés comme étant des composés ne jouant aucun rôle dans le processus du métabolisme essentiel à la survie des plantes.

On trouve parmi ces composés des acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes, et des glucosinolates. Ces produits allélochimiques sont présents dans pratiquement tous les tissus de la plante; des fruits, des fleurs, des feuilles en passant par la tige aux racines et rhizomes. Aussi au niveau du pollen et des graines.

Ils sont libérés de la plante à l'environnement au moyen de quatre processus écologiques : volatilisation, lixiviation, exsudat racinaire (on parle dans ce cas de télétoxie) et décomposition des résidus de la plante.

Les interactions allélopathiques sont souvent le résultat d'action jointes de plusieurs composés différents. Les activités biologiques des plantes réceptrices sont dépendantes de la concentration des produits allélochimiques c'est-à-dire qu'il n'y a émission d'une réponse que lorsque la concentration en produits allélochimiques atteint un certain seuil.

Faute de mobilité, les plantes ont dû s'adapter aux attaques prédatrices d'autres organismes tels les insectes, les champignons et les bactéries ; cela par des mécanismes chimiques de défense pouvant avoir plusieurs fonctions. Ils peuvent être insecticides, antimicrobiens, voire pour certains herbicides (**Inderjit and Keating, 1999**). Actuellement, plus de 30 000 métabolites secondaires sont connus et ce, grâce à l'analyse phytochimique de plantes supérieures.

2. Composés allélopathiques

Une des singularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la cellule, ne semble pas nécessaire tout en pouvant l'être au niveau de la plante entière. Le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal : ce sont des métabolites secondaires.

2.1. Nature chimique

Ces composés allélochimiques sont généralement des molécules de bas poids moléculaire, qui peuvent être hydrophiles ou lipophiles. Parmi ces composés, on trouve des acides phénoliques, des quinones et des terpènes. On peut citer la catéchine, l'acide élagique, la tellimagrandine, l'acide salicylique, l'acide férulique parmi les polyphénols ; la p-benzoquinone et la DMBQ parmi les quinones ; 1,8cinéole, 1,4cinéole, pinène parmi les monoterpènes (Dobremez et al., 1995).

2.2. Mode d'action au niveau biochimique et cellulaire

Les composés allélopathiques se comportent comme des herbicides naturels ; ils ont souvent plusieurs sites d'action et des effets divers sur les organismes cibles. Certains allélochimiques agissent en inhibant la photosynthèse, ce qui ralentit la croissance des phototrophes.

2.2.1. Quinones

Les quinones génèrent des oxygènes activés, responsables de leur toxicité.

Certaines substances agissent sur l'expression des gènes des organismes cibles. La DMBQ (quinone) émise par les racines hôtes induit le développement de plantes parasites en régulant l'expression de certains gènes, impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, la synthèse d'actine et de tubuline, l'extension des parois végétales et synthèse de GTP bindingprotein. La l-carvone de *Menthaspicata*, ses dérivés (limonène, p-cymène et isoprène) et plus généralement les terpénoïdes avec un motif p-menthane insaturé induisent l'expression des gènes bph des bactéries du genre *Arthrobacter*, responsables du catabolisme des PCB. Il existe probablement un récepteur aux structures isoprènes trouvées dans les monoterpènes, responsable de la régulation de l'expression de ces gènes. Mais les différents procédés par

lesquels de nombreuses plantes sélectionnent les génotypes cataboliques bactériens en réponse aux pollutions sont mal connus (**Worsham, 1991**).

2.2.2. Terpènes

Beaucoup de classes de monoterpènes volatils inhibent la croissance végétale comme le 1,8-cinéole (eucalyptol), le 1,4-cinéole, le pulegone, l'alpha et le bêta pinène. Le 1,4-cinéole inhibe la croissance des racines de certaines herbes en inhibant l'Asn-synthase au niveau du site de liaison de la glutamine.

2.2.3. Phénols

A l'échelle de l'organisme, les composés phénoliques assurent la protection contre les formes toxiques issues de l'oxydation initiale des lipides et participent à l'équilibre cellulaire d'oxydo-réduction (**Manak et al., 2004**).

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux, ils peuvent intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV...), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation ;
- dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquelles apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.
- dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leurs propriétés antioxydantes.

Les acides phénoliques peuvent perturber l'absorption minérale par la plante : l'acide salicylique (o-hydroxybenzoïque) et l'acide férulique (4-hydroxy-3-méthoxycinnamique) inhibent l'absorption d'ions K⁺ dans les racines d'*Avenasativa*. Le degré d'inhibition dépend de la concentration de l'acide phénolique et du pH (la diminution de pH entraîne une augmentation de l'absorption des composés phénoliques et donc de l'inhibition). Cette perturbation est due au fait que les acides phénoliques dépolarisent le potentiel membranaire des cellules racinaires ce qui modifie la perméabilité membranaire et ainsi le taux d'effluve d'ions, aussi bien anions que cations. L'étendue de la dépolarisation croît avec l'augmentation de la concentration en acides phénoliques, spécialement avec l'acide salicylique (**Manak et al., 2004**).

3. Participation des composés phénoliques à la résistance des plantes aux parasites :

L'implication des composés phénoliques dans la résistance des végétaux aux agents pathogènes recouvre trois aspects complémentaires :

- L'existence des barrières phénoliques constitutives, préexistant à l'infection et qui peuvent en limiter les effets ; deux groupes principaux participent à la défense de la plante contre l'infection par les agents pathogènes : d'une part ceux formant des barrières physiques, en particulier la lignine, d'autre part les composés solubles forment une barrière chimique efficace contre les agressions d'origine animale ou microbienne, parmi eux, les tanins jouent un rôle important au cours de l'évolution des végétaux en leur conférant un avantage adaptatif vis-à-vis des herbivores et des agents pathogènes (**Haslam, 1989 ; Grayer et al., 1994**).
- La stimulation de la biosynthèse de phénols déjà présents dans la plante avant l'infection mais qui vont être accumulés en plus grande quantité ;
- La biosynthèse de phytoalexines : Ce terme désigne des métabolites secondaires de faible poids moléculaire formés par la plante à la suite de l'infection et représentant une activité antimicrobienne nette. Parmi les phytoalexines phénoliques, on trouve des coumarines, des ptérocarpanes qui dérivent des isoflavonoides, des stilbènes... La nature des phytoalexines produites par une plante est généralement caractéristique de l'espèce végétale considérée, indépendamment de la nature de l'agent pathogène inducteur (**Macheix et al., 2005**).

4. Principaux composés phénoliques chez les agrumes :

4.1. Tanins :

Utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérables et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (thé, vin, ...). En première approximation, on peut considérer que les tanins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont divisés en deux groupes :

4.1.1. Tanins hydrolysables :

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (Figure 18) (Macheix *et al.*, 2005). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 1996).

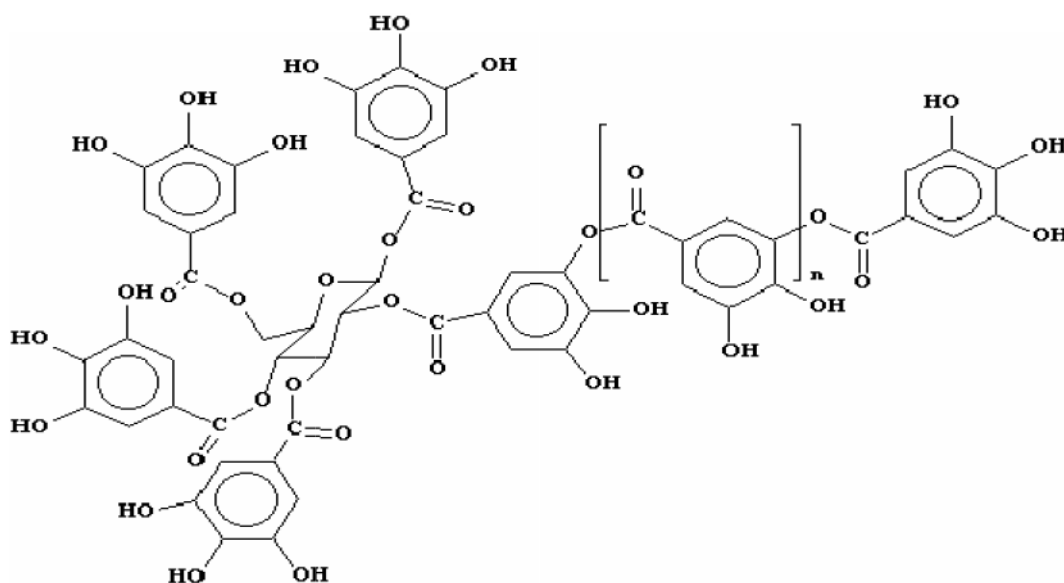


Figure18 : Structure de tanin hydrolysable (gallotanin) (Wawrzyniakl, 2006)

4.1.2. Tanins condensés :

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols dérivés de la (+) – catéchine ou de ses nombreux isomères (**Figure 19**). A la différence des tanins hydrolysables, ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides dilués (**Guignard, 1996 ; Macheix, 2005**).

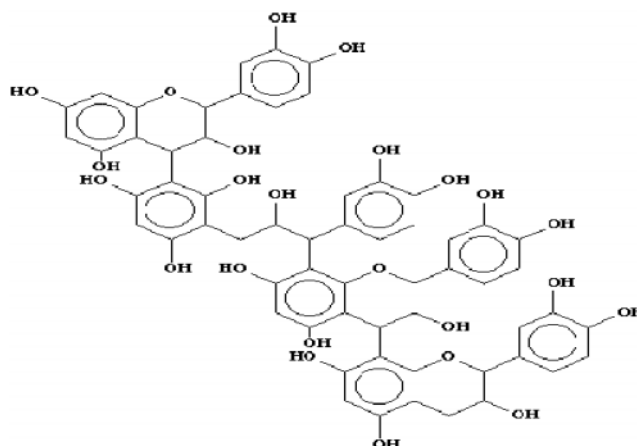


Figure 19: Structure de tanin condensé (la catéchine) (**Wawrzyniakl, 2006**)

4.2. Flavonoïdes :

Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement U.V. (**Hadi, 2004**).

Les flavonoïdes possèdent de remarquables activités biochimiques et pharmacologiques dues surtout à leurs pouvoirs antioxydant, antibactérien, antiviral et anti-inflammatoire. Ils sont proposés en ophtalmologie en cas de trouble circulatoire au niveau de la rétine ou de la choroïde et pour l'amélioration de la vision crépusculaire (**Bruneton, 1999**).

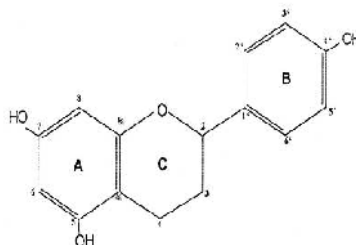


Figure 20 : Structure de flavonoïdes (**Wilmsen et al., 2005**).

5. Huiles essentielles :

5.1. Définition :

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

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

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

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

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

5.2. Composition chimique des huiles essentielles :

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

Selon **Bachelot et al. (2006)**, les huiles essentielles contiennent un grand nombre d'éléments biochimiques. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers et les terpènes.

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

5.3. Effets physiologiques et physiques des huiles essentielles :

5.3.1. Effets physiologiques :

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité ainsi que le développement des insectes et acariens.

Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent la cholinestérase (**Keane et Ryan, 1999**).

En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effet aigu interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des arthropodes (**Fanny, 2008**).

5.3.2. Effets physiques :

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires.

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

- repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation ;
- comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques ;
- réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse (effets allélopathiques) ;
- action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

5.4. Action des huiles essentielles :

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, larvicide, adulticide à l'égard de différents

ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés polyphénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (**Regnault et al., 2002**).

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

Selon **Ngamol et Hance (2007)**, les constituants des huiles essentielles sont des sources potentielles d'insecticides botaniques.

5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

5.5.1. Distillation :

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

5.5.2. Hydrodistillation :

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

5.5.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau.

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme et al., 1990**).

5.5.4. Hydrodiffusion :

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

5.6. Activités biologiques des huiles essentielles :

5.6.1. Activités antimicrobiennes :

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

5.6.1.1. Activité antibactérienne :

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

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

5.6.1.2. Activité antifongique :

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

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus saligna* et d'*Eucalyptus camaldulensis* ont montré un effet fongistatique vis-à-vis de *Phaeoramularia angolensis* (**Jaset-Dongmo et al., 2008**).

Piacentini en 1949 in (Fisher et Phillips, 2008) a noté pour la première fois, les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de *Citrus* en solution, qui sont plus puissantes que les phénols comme désinfectants.

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

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

5.6.1.3. Activité antivirale :

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

5.7. Activité liée à la composition chimique :

L'efficacité d'une huile essentielle dépend de sa richesse en composés phytochimiques, plus l'huile essentielle est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques et cétoniques).

Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des huiles essentielles et semblent agir en synergie avec les composés principaux (**Zhiri, 2006**).

Les composés chimiques qui ont le plus d'efficacité et à large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (-terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et rarement les terpènes (**Dorman et Deans, 2000**).

Par ce travail, nous nous proposons de connaître l'activité antiparasitaire et antifongique des différents types de composés phénoliques et des huiles essentielles intervenant chez l'oranger *Citrus sinensis*, grâce à son pouvoir allélopathique, afin de proposer un moyen de contrôle biologique issu de produits naturels, permettant de restreindre au maximum l'utilisation des pesticides.

Partie 1. Présentation de la zone d'étude :

1. Situation géographique de la wilaya de Tlemcen

La wilaya de Tlemcen se situe au nord-ouest de l'Algérie, entre 34° et 35°30' de latitude nord et 1°20 à 2°30' de longitude ouest. Elle est limitée par la Mer Méditerranée au nord, par la wilaya de Naâma au sud, à l'est par les wilayas de AinTémouchent et de Sidi Bel Abbès et par la frontière algéro-marocaine à l'ouest (**Fig 21**)

C'est une région essentiellement agricole avec une production très variée (légumes, légumes secs, fruits, céréales...) et une production animale principalement avicole.

L'agriculture dans cette région occupe une superficie totale de 350.000 ha. Elle est caractérisée par la production des agrumes dont les superficies occupées se présentent comme suit (**Tab 04**) :

Tableau 04: Répartition des agrumes dans la Wilaya de Tlemcen.

Espèces		Ferme Pilote	Secteur privé	Total général
Citronnier	Superficie (ha)	02	150	152
	Production (Qx)	100	7700	7800
Oranger	Superficie (ha)	43	1430	1473
	Production (Qx)	900	88600	89500
Mandarinier	Superficie (ha)	00	23	23
	Production (Qx)	00	1450	1450
Clémentinier	Superficie (ha)	08	304	312
	Production (Qx)	350	20900	21250
Total agrumes	Superficie (ha)	53	1907	19600
	Production (Qx)	1350	118650	120000

Source : Direction des Services Agricoles (Tlemcen).

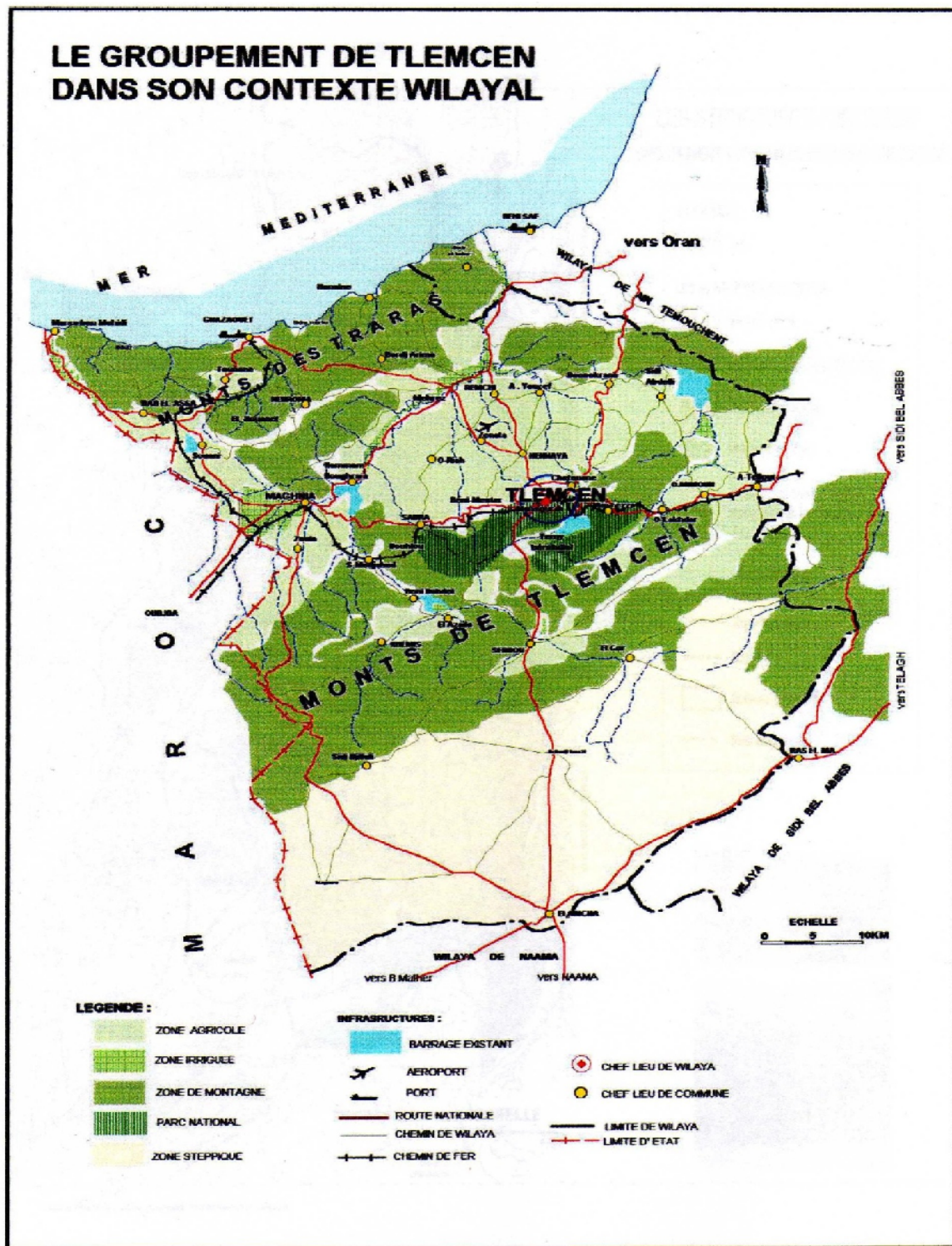


Figure21 :Situation géographique de la wilaya de Tlemcen (P.D.A.U, 2006).

2. Situation de la région de Maghnia

La commune de Maghnia à laquelle appartient notre station d'étude s'étend sur une surface de 294 km². Elle est située au nord-ouest de la wilaya de Tlemcen ; elle est limitée au nord et à l'est par la commune de Boughrara et les massifs des Traras qui l'isolent de la Mer Méditerranée, au sud par la commune de Béni Boussaid et par les contreforts des Monts de Tlemcen, et à l'ouest et au sud-ouest par le Maroc.

La station étudiée est un verger d'oranger *Citrus sinensis* de la variété Washington navel ayant une superficie de 3ha.

Ce verger est entouré par d'autres arbres comme pommiers, poiriers et oliviers.

3. Climat :

La région de Maghnia est sous l'influence du climat méditerranéen, caractérisé par une saison hivernale froide et humide avec des précipitations irrégulières et une grande luminosité, et une saison estivale longue et sèche à température élevée.

Les données météorologiques utilisées ont été recueillies au niveau de la station de Maghnia, proche de notre station d'étude.

Tableau 05 :Données géographiques de la stationmétéorologique.

station	Latitude	Longitude	Altitude
Maghnia	34°48'	01°46'	450m

Notre étude climatique est basée essentiellement sur les données de deux paramètres : les précipitations et les températures.

3.1. Précipitations et variations pluviométriques saisonnières :

La pluviométrie est un facteur primordial dans le fonctionnement de la nature. En effet, les précipitations sont l'un des facteurs climatiques qui conditionnent le maintien et la répartition du tapis végétal d'une part, et la dégradation du milieu naturel par le phénomène d'érosion d'autre part.

La quantité est mesurée à partir de postes pluviométriques, situés dans les lieux représentatifs d'une région, elle s'apprécie par le régime saisonnier ou annuel.

Les valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles, de 2004 à 2014, sont représentées par la **figure 22**.

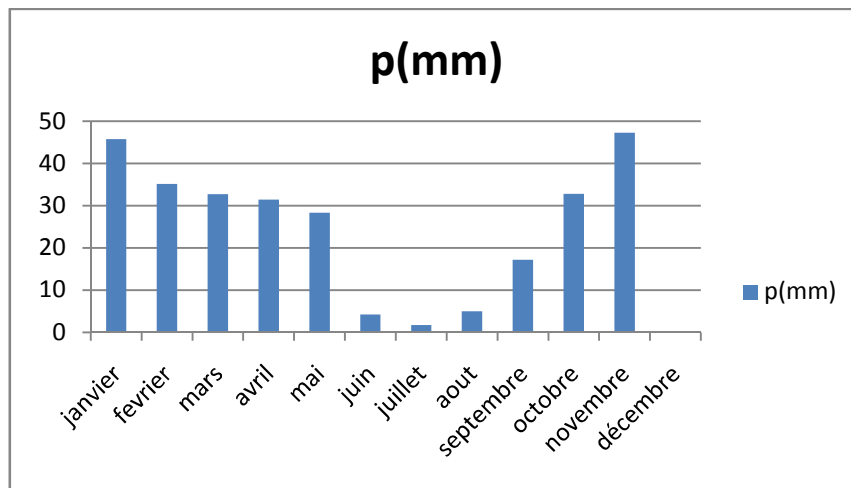


Figure 22 : Valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles de la station de Maghnia.

L'histogramme montre que le mois de juillet est le plus sec et le mois de novembre le plus arrosé.

Le régime des pluies montre mieux la répartition des précipitations annuelles entre les diverses périodes et le plus souvent entre les divers mois de l'année.

Le régime pluviométrique est défini généralement pour l'année, moyenne afférente à une longue période.

Tableau 06 : Régime saisonnier des précipitations pour la période 2004-2014.

Période	Répartition saisonnière des pluies				Ensemble des pluies	Régime saisonnier
	Hiver	Printemps	Eté	Automne		
2003-2013	116,85mm	92,51mm	10,98mm	97,22mm	317,56mm	H.A.P.E

La comparaison des quantités pluviométriques des quatre saisons de l'année donne les résultats suivants, classés selon un ordre décroissant (**tab.06**) :

-Hiver : décembre, janvier, février (p= 116,85mm) ;

-Automne : septembre, octobre, novembre (p= 97,22mm) ;

-Printemps : mars, avril, mai (p= 92, 51mm) ;

-Eté : juin, juillet, août (p= 10,98mm).

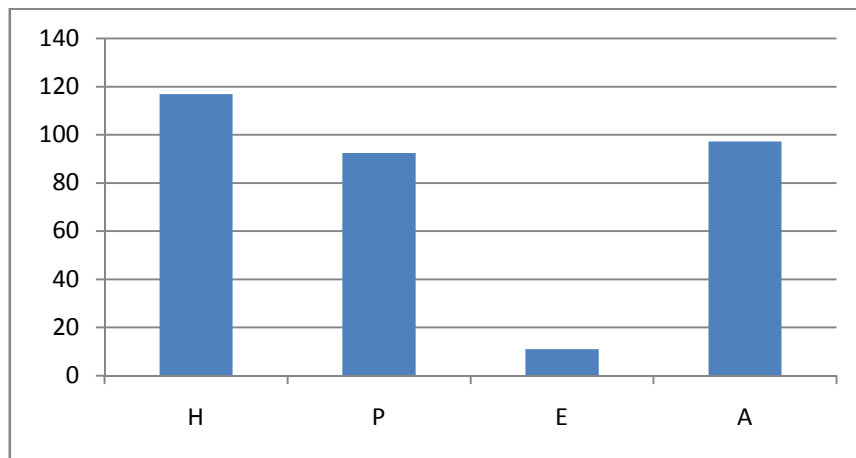


Figure23 : Répartition saisonnière des pluies (2004-2014).

3.2. Les vents :

Selon **Elhai (1974)**, les vents se distinguent par deux caractéristiques durant l'année :

-première caractéristique : elle concerne une partie de l'année dont la température est basse et la pluviométrie est élevée. Cette période est dominée par des vents de direction ouest et sud-ouest durant le jour et nord à sud-ouest pendant la nuit avec une forte intensité ;

-deuxième caractéristique : elle concerne l'autre période de l'année qui connaît une température élevée et une pluviométrie faible arrivant jusqu'à 0 mm. Les vents d'est sont dominants le jour et une partie de la nuit avec une faible intensité.

3.3. Température :

Elle joue un rôle primordial dans la plupart des phénomènes écologiques. Sa durée au cours du cycle nyctéméral (photopériode) contrôle l'ensemble du cycle vital des espèces

animales (phénomènes d'hibernation ou de diapause par exemple, mais aussi la maturation sexuelle. (**Ramade, 2003**).

Les températures moyennes mensuelles calculées sur la période allant de 2004 à 2014 sont données dans le tableau suivant :

Tableau 07: Températures moyennes mensuelles à la station de Maghnia de 2004 à 2014.

Mois	jan	Fév	Mar	avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Déc
T(°C)	9.65	10.80	12.90	15.47	18.95	23.48	27.02	27.40	23	19.27	14.02	10.45

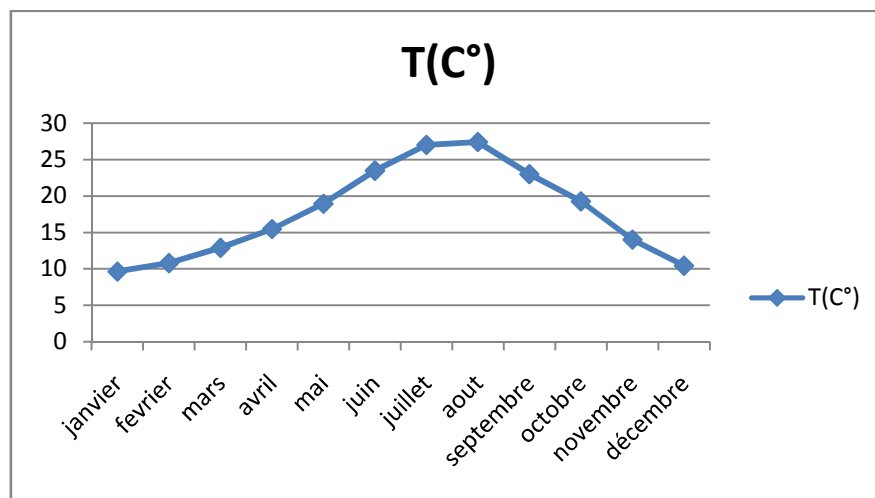


Figure 24 : Variations des températures mensuelles moyennes pour la période 2004-2014.

Durant la période de 2004-2014, les températures moyennes les plus élevées marquent les mois les plus chauds que sont juin, juillet, août et septembre, alors que les mois les plus froids correspondent aux saisons d'automne et d'hiver.

3.4. Synthèse bioclimatique :

La synthèse bioclimatique est indispensable à tout projet relatif à l'environnement, elle conditionne, par le biais de ses composantes, le type du climat et la couverture végétale.

Pour réaliser cette synthèse, nous avons retenu le diagramme de **Bagnoulset Gaussen (1953)** et l'indice d'**Emberger (1952)**.

En effet, la combinaison des deux paramètres climatiques, températures et précipitations, a permis à ces auteurs la mise au point de plusieurs indices qui rendent mieux compte du climat et de la végétation existants.

a. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen :

Bagnouls et Gaussen (1953) ont optimisé l'utilisation des valeurs des précipitations et des températures en les représentant sur le diagramme ombrothermique pour pouvoir suivre leur évolution simultanée, afin de déterminer la période sèche.

L'échelle préconisée par ces auteurs est $P = 2T$, avec P exprimé en (mm) et T en degrés Celsius. Nous avons tracé le diagramme ombrothermique pour l'ensemble des dix ans (2004-2014) pour la station de Maghnia.

Le mois le plus humide est celui où le total des précipitations est égal ou supérieur au double de la température selon la relation $P \geq 2T$.

Le mois le plus sec est celui où le total des précipitations est inférieur au double de la température $P < 2T$.

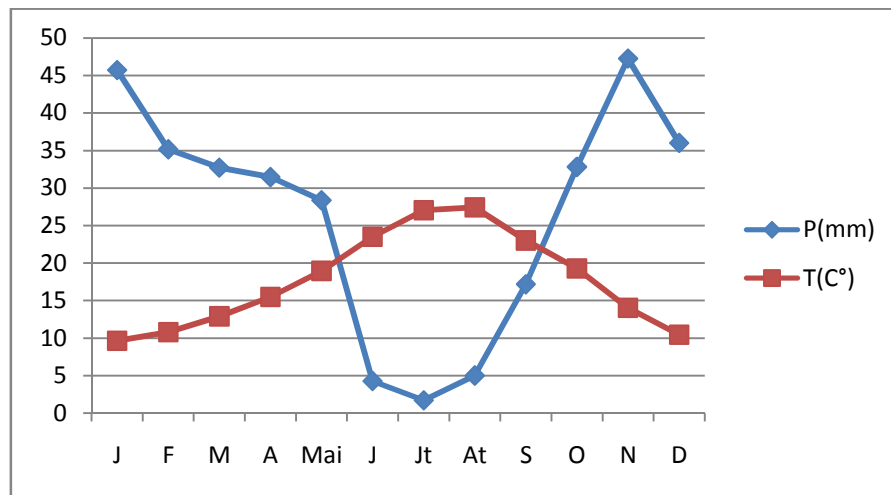


Figure 25 : Diagramme ombrothermique de la période (2004-2014) de la station de Maghnia.

L'analyse du diagramme ombrothermique (**fig.25**) de 2004 à 2014, nous donne cinq mois de sécheresse, de mai à septembre.

La période pluvieuse, se caractérise par la présence de deux pics pluviométriques (janvier et novembre).

b. Quotient pluviothermique et climagramme d'Emberger :

L'utilisation du quotient pluviothermique (Q₂) est spécifique au climat méditerranéen, il a été utilisé avec succès en Afrique du nord et en France méditerranéenne.

Emberger (1952) a subdivisé la région méditerranéenne en cinq étages bioclimatiques (**Fig.26**).

Ce quotient permet de tracer des diagrammes qui déterminent l'aire géographique d'une espèce donnée.

Pour connaître les variations de températures dans la zone étudiée, on utilise classiquement la moyenne (M) des maxima du mois le plus chaud et la moyenne (m) des minima du mois le plus froid.

Il est exprimé par les valeurs de l'équation suivante :

$$Q_2 = 2000P / M^2 - m^2$$

Avec :

P : moyenne annuelle des précipitations (exprimée en mm).

M : moyenne des maxima du mois le plus chaud (en degrés Kelvin).

m : moyenne des minima du mois le plus froid (en degrés Kelvin).

$$T^{\circ}K = T^{\circ}C + 273,2.$$

Les données pour la période (2004-2014) sont :

$$P: 317,58\text{mm} \qquad 2000.P = 635160.$$

$$M : 34,9 + 273,2 = 308,1^{\circ}K \qquad M^2 = 94925,61$$

$$m : 2,97 + 273,2 = 276,17^{\circ}K \qquad m^2 = 76269,86$$

$$Q_2 = 2000.P / M^2 - m^2$$

$Q_2 = 34,04$

Le quotient d'Emberger, calculé et reporté sur le climagramme (fig.26), place la région d'étude en ambiance bioclimatique semi-aride inférieure à hiver tempéré.

Q_2

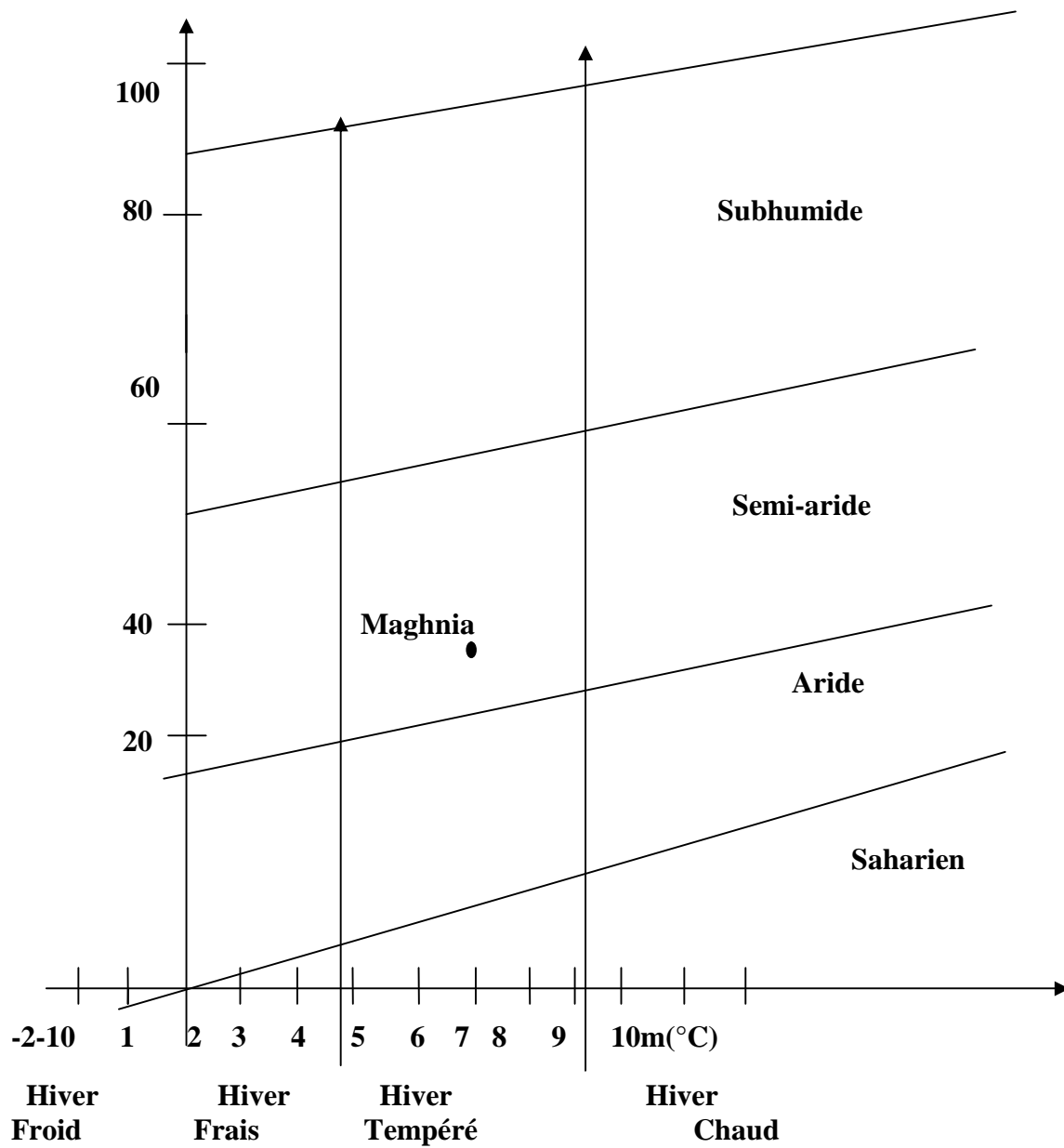


Figure26 : Climagramme d'Emberger pour notre région d'étude (2004-2014).

Partie II : Etude entomologique

L'étude bioécologique de ce phytophage dans notre région est réalisée à partir des élevages effectués au laboratoire.

Les principaux caractères étudiés sont :

Le taux d'infestation des agrumes par le ravageur *Ceratitiscapitata* à partir du nombre de trous de ponte et de fruits chutés et les taux de mortalité larvaire et pupal ainsi que les durées de développement des différents stades de la mouche.

1. Matériel pour élevage :

- Des cuvettes en plastique contenant du sable ;
- Eponges mouillées ;
- Tulles ;
- Des boîtes de Pétri.

2. Méthodes

2.1 Echantillonnage des agrumes

L'échantillonnage des arbres est fait aléatoirement dans tout le verger visité lors de nos sorties. Celles-ci sont effectuées au mois de novembre et décembre, tant que les oranges ne sont pas récoltées.

Le principe de cet échantillonnage consiste à choisir le premier arbre qui se situe en général en début de l'alignement, puis à échantillonner les autres arbres un peu partout dans le verger.

L'échantillonnage aléatoire

Les techniques d'échantillonnage aléatoire reposent sur le hasard. Les unités statistiques sont désignées par le hasard et ont toute la même chance d'être choisies.

Quatre prélèvements sont effectués au niveau de notre verger, selon un échantillonnage aléatoire pendant la période de notre étude à raison d'un prélèvement chaque vingt jours.

Nous nous sommes basés sur trois facteurs :

- la date de prélèvement ;
- l'arbre échantillonné ;
- l'orientation des fruits.

2.2 Mise en élevage :

Pour connaître le taux d'infestation au sein de notre verger d'oranger de la variété Washington navel, nous nous sommes limités à l'étude des fruits chutés puisqu'ils ont perdu leur valeur marchande.

Au laboratoire, la méthode est simple, elle consiste à mettre des oranges dans des cuvettes contenant du sable(**fig.27A**) pour permettre l'enfouissement des nymphes et des larves issues de ces fruits, une éponge mouillée assure l'hygrométrie nécessaire au développement des différents stades de l'insecte.

Ces fruits sont préalablement observés pour dénombrer le total des larves qui vont nous informer sur les taux de mortalité larvaire et pupal, ainsi que sur les taux d'infestation relatifs à ces stades.

On peut estimer les taux d'infestation à partir des trous de ponte, des larves, ou larves plus pupes plus trous de sortie, représentant le total des larves.

Chaque cuvette est recouverte de tulle pour éviter toute perturbation externe et empêcher les futurs imagos de s'envoler, l'émergence de ces derniers est contrôlée quotidiennement pour les dénombrer et les nourrir par une substance sucrée (miel industriel + eau) pour les maintenir en vie dans des bocaux (**fig 27.B**), un maximum de temps, et d'estimer leur longévité aux conditions de laboratoire.

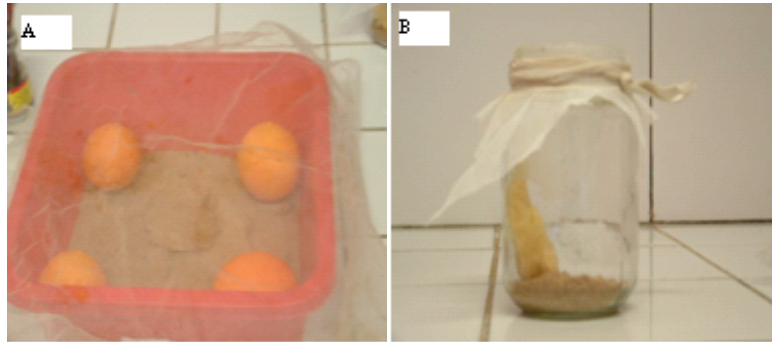


Figure 27 : matériel d'élevage au laboratoire

2.3 Analyses statistiques des données :

Les résultats obtenus sont testés par les analyses de variance et les corrélations linéaires.

2.3.1. Analyse de variance:

L'analyse de variance à un facteur (Anova 1) est utilisée pour tester l'influence de l'orientation et de l'arbre sur les trous de ponte et les fruits chutés, car on ne peut les associer tous les deux. Les calculs sont effectués à l'aide du Minitab16.

2.3.2. Corrélation et régression :

- Coefficient de corrélation linéaire

Pour savoir s'il existe une dépendance entre la date et les nombres de piqûres des oranges infestées, nous avons calculé les coefficients de corrélation linéaire.

Principe : pour établir une relation d'indépendance entre deux variables X et Y, il suffit de calculer le coefficient de corrélation :

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{n\sigma_x \times \sigma_y} = \frac{\text{Cov}(X, Y)}{\sigma_x \times \sigma_y}$$

r est compris entre -1 et +1

-si r=0 il n'y a pas de corrélation linéaire entre les variables X et Y ;

-si $r > 0$ il existe une liaison positive entre les deux variables ;

-si $r < 0$ il existe une liaison négative entre les variables ;

-si les deux variables suivent une loi normale, on peut tester le coefficient de corrélation par rapport au zéro en calculant la quantité $t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$, qui est distribuée, sous l'hypothèse H_0 selon loi de Student à $(n-2)$ ddl.

Si $t > t$ théorique, la corrélation entre les deux variables est jugée significative ; il existe alors une dépendance statistique entre elles.

- **Droite de régression**

S'il existe une corrélation significative entre les variables X et Y, on peut établir une droite de régression. Elle permet d'estimer des valeurs de Y connaissant certaines valeurs de X. ce qui nous permet de prédire l'évolution ou l'effectif de l'un des stades en connaissant ceux de l'autre, si r^2 est positif.

Partie III : Etude mycologique

1. Echantillonnage :

L'échantillonnage aléatoire nous permet d'étudier le taux d'infestation par la mycoflore pathogène dans le verger d'agrumes, nous avons analysé des fruits sains et contaminés.

Les échantillons sont immédiatement placés dans des sachets en plastique stériles, bien scellés et placés dans une glacière. Les analyses sont réalisées dans les heures qui suivent le prélèvement.



Figure28 : photo du prélèvement

1.2 Isolement et dénombrement de la flore fongique :

a. Méthode d'Ulster (Larpen, 1990)

C'est une méthode de mise en évidence des moisissures de surface. Elle consiste à prendre au hasard des oranges saines et malades, y découper 06 à 08 morceaux (1cm/1) d'écorce de chacune d'entre elles et de les faire ensemencer sur les milieuxPDAa = (potatoes dextrose agar acidifiée).

L'incubation se fait à $25 \pm C^{\circ}$ pendant 5 à 7 jours.

Pour éviter la contamination bactérienne, le milieu PDA est acidifié jusqu' à pH de 4,5 à 5 en ajoutant 1 ml d'acide lactique à 25 % par flacon.

b. Purification :

Nous avons procédé à la purification des différentes souches de moisissures issues des deux méthodes, en appliquant plusieurs repiquages successifs sur milieu PDAA, jusqu'à l'obtention d'isolats purs. Ces derniers sont repris sur des tubes de PDAA inclinés et incubés à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant une semaine ou plus. Afin d'assurer leur conservation, les tubes sont gardés à 4°C .

c. Identification des moisissures :

L'identification est une étude corrélative entre les caractères cultureux macroscopiques et les caractères microscopiques.

- Les caractères cultureux : leur étude se fait à l'œil nu et à la loupe binoculaire. Ils se basent essentiellement sur l'aspect morphologique des colonies, la texture du thalle, la couleur du revers de la boîte de Pétri et la pigmentation des spores ainsi que l'odeur et la vitesse de croissance.
- Les caractères microscopiques sont observés grâce à deux méthodes : soit par la méthode de microculture, soit par la méthode de scotch qui est la plus facile.

La technique de microculture, décrite par **Harris** en **1989**, consiste à inoculer les spores des moisissures sur des lames munies de petits carrés de PDAA solidifiés et les couvrir par des lamelles.

Les spores sont ensemencés sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé, afin qu'ils puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 3 à 5 jours.

Après l'incubation, les lamelles auxquelles adhère le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol pour l'observation microscopique aux grossissements x10, x40, x100. Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de **Barnett(1972)**.

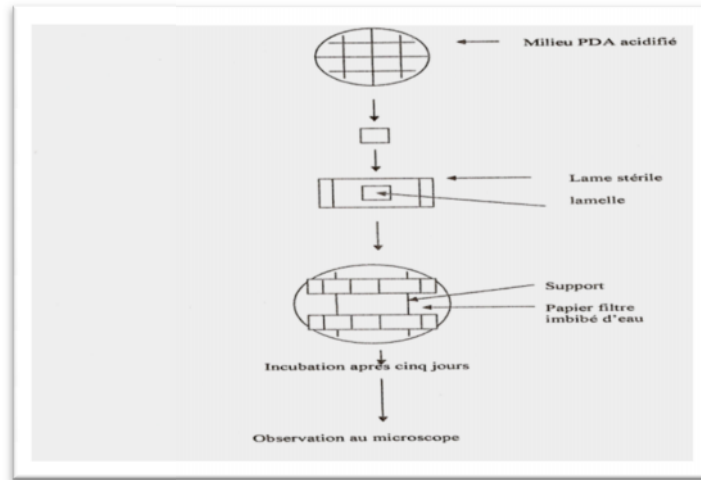


Figure 29 :Technique de microculture (Harris, 1989).

Partie IV : Etude des composés phénoliques

Pour les différentes analyses chimiques qui concernent l'étude du pouvoir allélopathique des oranges saines et infectées de notre région, elles sont récoltées dans la région de Maghnia durant les quatre prélèvements (15/11/2013, 30/11/2013, 9/12/2013 et le 25 /12/2013).

Au laboratoire, leurs écorces sont séchées puis stockées à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à leurs utilisation ultérieure.

1. Plan de travail

Pour cette étude phytochimique nous avons utilisé le protocole suivant (**fig. 30**)

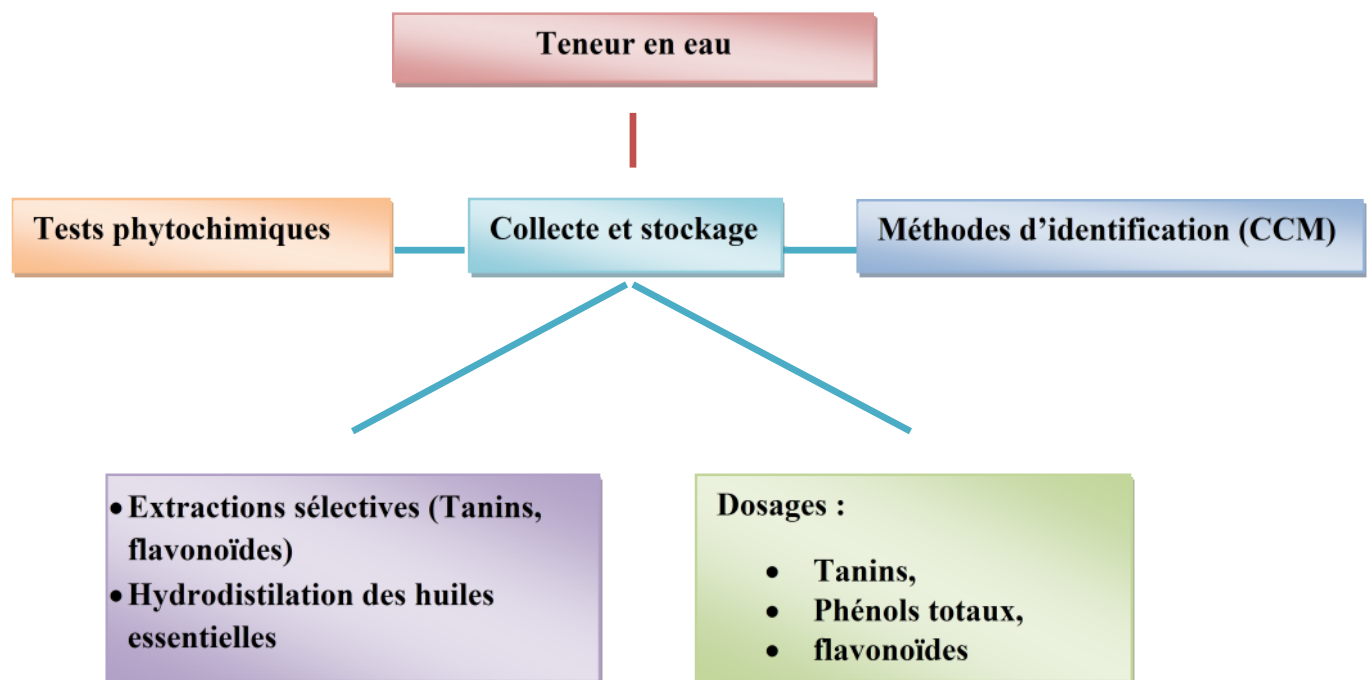


Figure30 : Plan de travail.

1.1 Détermination de la teneur en eau :(Audigie et *al.*, 1980)

La détermination de la teneur en eau est effectuée, par une dessiccation de la biomasse, dans une étuve isotherme de 100 à 105°C jusqu'à une masse pratiquement constante.

❖ Mode opératoire:

- Introduire dans deux vases 2 g de matériel biologique frais : c'est le poids P1 ;
- Placer les dans une étuve réglée à 105°C pendant trois heures ;
- Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec un temps réduit (une heure seulement) jusqu'à ce que la différence entre les deux pesées ne soit plus significative (inférieure à 0.005).

❖ Expression des résultats :

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (H\%)} = (P - P1 / m) \times 100$$

Dont :

P1 : masse de la prise d'essai en gramme avant séchage ;

P : masse de la prise d'essai en gramme après séchage ;

m : masse du matériel biologique.

$$\text{Taux de la M.S (\%)} = 100 - H (\%)$$

M.S : matière sèche ;

H : teneur en eau.

1.2 Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques permettent de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques, essentiellement les composés phénoliques, les alcaloïdes...

D'après la bibliographie, l'écorce de l'oranger est très riche en flavonoïdes et à un degré moindre, en tanins et en huiles essentielles qui fournissent une partie des terpénoïdes. Pour ce faire, nous avons préféré nous rendre compte de leur présence ou de leur absence en utilisant

des tests simples et rapides, pour que l'on puisse déterminer leurs rendements et leurs quantités.

❖ **Principe :**

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimiques réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur l'échantillon à analyser.

- Essais de solubilité des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques : eau, éthanol, méthanol, chloroforme et éther diéthylique ;
- Réaction de coloration et de précipitation ;
- Examen sous la lumière ultraviolette.

❖ **Mode opératoire :**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 5g d'échantillon séché à l'air sont extraits par Soxhlet en utilisant les solvants suivants: l'eau distillée, méthanol, éthanol, chloroforme et l'éther diéthylique. Les extraits bruts sont filtrés, concentrés, à l'aide d'un rotavapeur et stockés à 4°C pour être utilisés pour les analyses ultérieures (**Trease et Evans, 1987**).

❖ **Test pour les tanins :**

1ml de l'extrait éthérique, éthanolique ou aqueux sont mélangés avec 10ml d'eau distillée et filtrés. L'addition de 3 gouttes du réactif Chlorure ferrique $FeCl_3$ préparé à 1% permet de détecter la présence ou non des tanins.

La couleur vire au bleu noir en présence de tanins hydrolysables (tanins galliques) et au brun verdâtre en présence des tanins condensés (tanins catéchiques) (**Trease et Evans, 1987**).

❖ **Test pour les flavonoïdes :**

5ml de la solution diluée d'ammoniac (NH_3^+) est ajouté à l'extrait aqueux filtré, elle est suivie par l'addition de l'acide sulfurique concentré.

L'apparition d'une couleur jaune qui disparaît après un certain temps indique la présence des flavonoïdes (**Harborne, 1973 ; Sofowara, 1993**).

❖ Test pour les alcaloïdes :

Dans un bain-marie on mélange 0.2ml de l'extrait aqueux éthanolique ou étherique avec 5ml d'une solution aqueuse de HCl préparée à 1% (en utilisant un agitateur avec barreau magnétique).

Après filtration, un volume de 1ml du filtrat est traité par 3 gouttes du tétraiodo-mercure de potassium connu sous le nom du réactif de Mayer (**voir annexe 03**), alors que l'autre quantité (1ml) est traitée par le réactif de Wagner (**voir annexe 03**). Toute turbidité ou précipitation indique la présence des alcaloïdes (**Harborne, 1973 ; Sofowara, 1993**).

❖ Test pour les saponosides (Dohouet *al.*, 2003) :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Nous avons procédé à une décoction, 2g de poudre végétale avec 100 ml d'eau distillée. On porte à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1, 2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en centimètre. Si elle est proche de 1 cm dans le X^{ème} tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \text{hauteur de mousse (en cm) dans le X}^{\text{ème}} \text{ tube} * 5 / 0,0X.$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100.

❖ Test pour les dérivés anthracéniques:

Nous avons préparé un extrait chloroformique pour le test des anthracéniques libres et un hydrolysât pour les tests des anthracéniques combinés (**Paris *et al.*, 1969**).

♦ **Extrait chloroformique :** Dans un tube à essai, nous introduisons 2g de poudre végétale et 10 ml de CHCl₃, nous fermons le tube. Après chauffage au bain-marie bouillant pendant 1 minute et filtration sur papier buvard, nous complétons à 10 ml avec du CHCl₃.

♦ **Hydrolysât :** le résidu de poudre épuisé par le CHCl₃ est additionné de 10 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré. Après un chauffage au bain-marie bouillant pendant 15

minutes, nous ssons la solution sous un courant d'eau et filtré. Le filtrat est complété à 10 ml avec de l'eau distillée.

La coloration plus ou moins rouge de l'extrait chloroformique (1ml) additionné de NH₄OH dilué au demi, indique la présence des quinones.

1.3.Extractions sélectives :

1.3.1.Extraction des tanins (Bruneton, 1999) :

10 g de poudre végétale sont ajoutés à 20 ml d'eau distillée et à 50 ml d'acétone. Porter l'ensemble à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours.

Filtrer et extraire la solution 2x50 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanté et extraire la phase aqueuse 4x50 ml d'acétate d'éthyle, ensuite évaporer le solvant à sec (**Bruneton, 1999**).Enfin, calculer le rendement des tanins quantitativement.

1.3.2.Extraction des flavonoïdes

20 g de poudre végétale sont mis à macérer dans un mélange hydro alcoolique (méthanol/eau; 70/30 v/v), sous reflux pendant 2 heures. Après filtration, les solutions hydro-méthanoliques sont concentrées à sec sous pression réduite et à une température 60°C (**Harborne, 1998**).

Les résidus secs obtenus, après évaporation du filtrat méthanolique, sont repris dans 200 ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée (l'opération est répétée deux fois), puis séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60 °C. Le résidu sec est repris, par quelques millilitres de méthanol ou DMSO. Cette fraction est la phase d'acétate d'éthyle.

La phase aqueuse issue de l'extraction avec l'acétate d'éthyle est reprise dans 200 ml du n-butanol (l'opération est répétée deux fois). La phase n-butanol est séchée au rotavapeur à 60°C (**Bekkaraet al.,1998**). Ensuite on calcule le rendement.

Expression des résultats : on calcule le rendement par la formule suivante :

(Poids du ballon +(l'extrait)- poids du ballon vide)x 100.

1.3.3.Extraction des huiles essentielles :

Après séchage du matériel végétal, on procède à l'extraction par la technique d'hydrodistillation (**fig.31**).

900g de zeste d'orange sont additionnés à l'eau (2500ml), l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile essentielle H.E se séparent par différence de densité.

L'huile extraite est conservée à une température voisine de 5°C, dans des flacons en verre opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière, des variations de température, qui sont les principaux agents de dégradation. Une huile altérée perd son activité biologique.



Figure 31 : Dispositif d'hydrodistillation.

Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (**Carre, 1953 in Bekhchi-Benhabib, 2001**).

$$\text{Rd}\% = \frac{\text{m1}}{\text{m0}} \times 100.$$

m1 : masse en gramme d'huile essentielle ;

m0 : masse en gramme de la matière végétale sèche ;

Rd : rendement en huile essentielle.

1.4. Dosage des composés phénoliques :

1.4.1. Dosages des phénols totaux:

❖ Extraction :

• Principe :

L'extraction des polyphénols consiste à macérer à froid la poudre de l'échantillon à analyser dans une solution d'acétone aqueuse pendant 24 heures.

L'acétone aqueuse et le méthanol aqueux, avec des proportions entre 70% et 50% (V/V), sont les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols.

L'acétone aqueuse est généralement plus efficace que le méthanol aqueux (Yu et Dahlgren, 2005).

• Mode opératoire :

Une prise d'essai de 1g de l'échantillon est macérée avec 50ml du mélange acétone/eau (70% V/V) pendant 24 heures.

Après filtration sous vide, le mélange acétone /eau est évaporé à sec, sous pression réduite, à 45°C.

Le dosage des polyphénols est déterminé par le réactif de **Folin-Ciocalteu** selon le procédé de **Singleton et Rossi (1965)** et reporté par **Dogyan et al. (2005)**.

❖ Préparation de l'échantillon :

Le résidu obtenu après l'extraction est dissout dans 5ml d'eau distillée, puis 100µl de cette solution mère sont dilués à 1/10 ; ensuite on ajuste le volume à 3 ml, enfin on y ajoute 0.5ml du réactif de **FolinCiocalteu**.

- laisser réagir pendant 3 minutes ; puis ajouter 2ml de carbonate de sodium à 20% ;
- vortexer le mélange et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure ;
- lire l'absorbance à 650 nm ;
- on obtient une valeur x mg/g.

Tous les tests sont effectués trois fois.

❖ **Préparation de l'étalon : (voir annexe 03).**

❖ **Expression des résultats :**

La teneur totale en composés phénoliques est calculée en Pyrrocatechol équivalent (mg PE/gMS), à partir de la courbe d'étalonnage de Pyrrocatechol solution standard (gamme 1-15 mg/ml), donnant une équation sous la forme:

$$\text{Absorbance} = 0,1324 \text{Pyrrocatechol (mg / mL)} - 0,0357 \quad (R^2 = 0,9973)$$

L'équation est donnée ci- dessous (fig.32). :

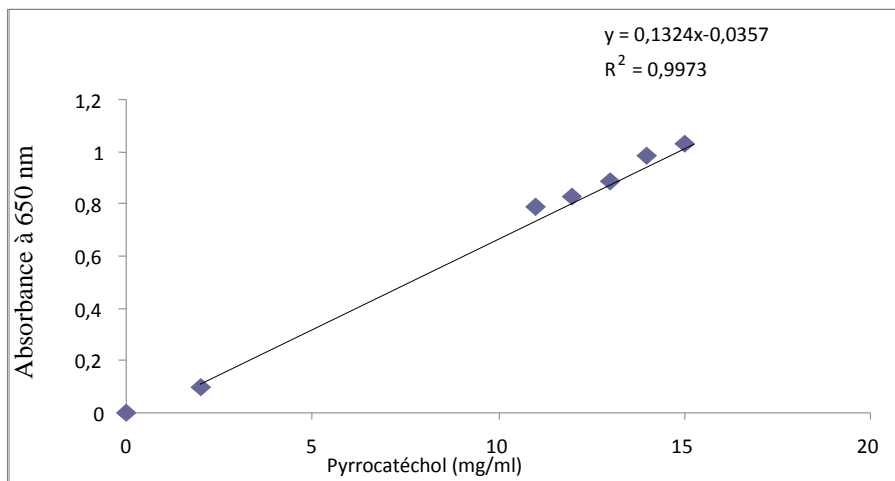


Figure 32 : Courbe d'étalonnage standard pour le dosage des polyphénols.

1.4.2. Dosage des flavonoïdes :

Cette teneur est déterminée sur la base de la formation de flavonoïde aluminium (Djeridane et al., 2006). 1 ml de chaque échantillon extrait est mélangé avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2%. Après une incubation de 15 min à température ambiante, l'absorbance à 430 nm est déterminée à l'aide du Spectrophotomètre UV / Vis JEN6405.

La courbe d'étalonnage est réalisée avec de la rétine (0.1.1 large mg /ml), ce qui donne l'équation suivante:

$$\text{Absorbance} = 2,3023 \text{Rétine (mg / ml)} + 0,021 \quad (R^2 = 0,992)$$

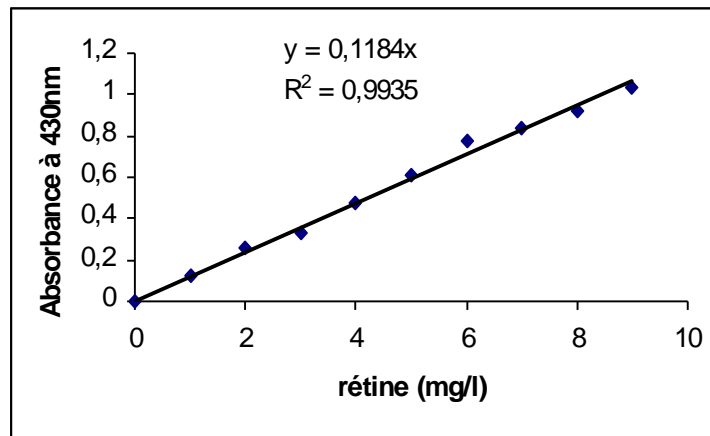


Figure 33: courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats sont exprimés en équivalent Rétine(mg QE/gMS).

Les tests sont répétés trois fois.

1.4.3. Dosage des tanins :

Extraction des tanins par le polyvinyle polypyrrolidone (PVPP) :

❖ Principe :

Extraire les polyphénols totaux de l'échantillon par l'acétone/eau et utiliser une matrice insoluble, le polyvinyle polypyrrolidone (**PVPP**), substance capable de se complexer avec les tanins (polyphénols de haut poids moléculaire), puis procéder au dosage des polyphénols libres par la méthode de **FolinCiocalteu (FAO/IAEA, 2000)**.

❖ Mode opératoire :

Une prise d'essai de 2g de la poudre d'échantillon est additionnée à 100ml d'acétone/eau à 70%. Après macération de 24 heures, filtration sous vide, le filtrat est évaporé à sec à 45°C. Le résidu obtenu est solubilisé dans 5ml d'eau distillée (extrait qui contient les tanins).

-vortexer le mélange (100mg de PVPP avec 1ml d'eau distillée et 1ml de l'extrait) et le laisser à 4°C pendant 15 minutes ;

-centrifuger à 3000 tours/10 minutes ;

-collecter le surnageant ;

-ce surnageant représente seulement les phénols simples puisque les tanins sont retenus ou précipités par le PVPP. on peut doser les phénols simples par la méthode de FolinCiocalteu (Makkar *et al.*, 1993).

On obtient une valeur **Y** (enmg) de pyrocatéchol/g de matière sèche.

1.5. Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) pour l'identification des composés phénoliques de l'orange :

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélanges complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques.

Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, et un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction, étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel. La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tel que :

- **Une cuve chromatographique** : c'est un récipient en verre quadrangulaire fermé par un couvercle maintenu étanche (Fig.34).

- **Une phase stationnaire** : c'est une couche d'absorbant étalée uniformément sur un support en aluminium ou en verre, de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm), avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm. L'adsorbant que nous avons utilisé est le gel de silice (Merck) qui permet la séparation de substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.

- **La phase mobile** : c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé. Pour notre travail, nous avons utilisé comme éluant un mélange de solvants : butanol, acide acétique et eau distillée (66/17/17 : v/v/v).

Préparation de la chromatographie : on trace sur la plaque de gel de silice une ligne de dépôt à 2cm du bord de la plaque et une ligne de front à 1cm du bord supérieur de la plaque.

Les échantillons : ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant. Les échantillons à analyser sont appliqués en petits spots sous forme de points ou de bandes sur l'adsorbant. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée.

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes = 254 nm et 365 nm).

Si nécessaire, les tâches du chromatogramme sont révélées par pulvérisation de réactifs appropriés. On détermine alors, pour chaque constituant, le facteur de rétention:

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

- Le **Rf** est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé, sur un support «phase stationnaire» donné ;
- Le **Rf** est le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange ;
- Le **Rf** ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange.

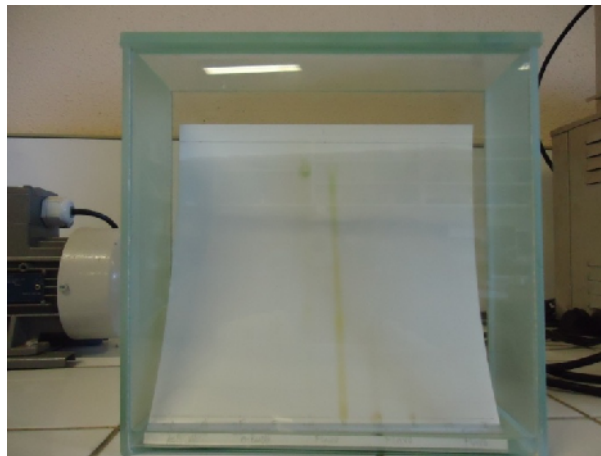


Figure 34 : Principe de la chromatographie sur couche mince.

1.6. Etude de l'activité insecticide :

Pour l'activité insecticide des composés phénoliques contre les différents stades de développement de *C.capitata*, nous avons effectué nos essais avec les extraits flavonoïques, taniques et l'huile essentielle de zeste d'orange, (au Laboratoire de la Mouche Stérile au Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires de Sidi Thabet, Tunisie).

- **L'effet des extraits phénoliques :**

Nous avons testé les extraits phénoliques (flavonoïdes avec les deux phases nbutanol et la phase d'acétate d'éthyle, et les tanins).

Pour les adultes, nous avons testé ces extraits avec quatre doses différentes (5 μ l, 7 μ l, 8 μ l et 12 μ l), on a placé les adultes dans des bocaux(**Fig.35**) qui contiennent le milieu nutritif qui est composé par la levure et le sucre(25%, 75%). la dose de l'extrait est injectée dans le milieu nutritif. Chaque dose est répétée 3 fois. On a suivi le taux de mortalité jusqu'à 72h.

Pour les larves, nous avons testé les deux stades larvaires L1 et L2, avec différentes doses (2 μ l, 3 μ l, 4 μ l et 8 μ l). Nous avons placé 10 larves de stade L1 dans le milieu d'élevage qui contient la dose d'extrait phénolique, ce milieu est composé par 14% sucre, 7% levure, 28% son de blé, 0,002 benzoïde de sodium, 50% eau et 1,75% HCL de telle sorte on obtient le PH entre 3,4 et 3,8.

Le même mode opératoire est utilisé pour les larves L2.

Le témoin est testé avec le DMSO.

Les tests sont répétés 3 fois.

Nos analyses statistiques traitent les données après 72h.

Le logiciel utilisé est le Stat Graphics.



Figure 35 : Le test des extraits phénoliques sur les adultes de *C.capitata*.

- **L'effet de l'huile essentielle :**

Ce test est réalisé par inhalation, on a mis dans des bocaux une masse de coton imbibée d'huile essentielle avec différentes doses (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l), dix insectes sont introduits dans chaque bocal qui seront fermés hermétiquement(**Fig.36**).

La même méthode est utilisée pour tester les larves L1 et L2 avec l'addition de l'huile essentielle avec des concentrations différentes (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l).

Les essais sont répétés trois fois pour chaque dose, des lots témoins sont réalisés en parallèle sans être exposés à l'huile essentielle.

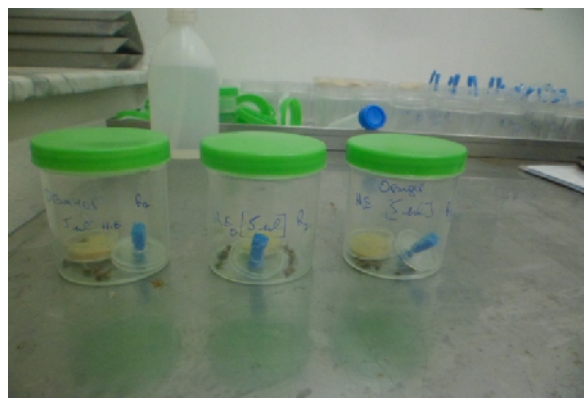


Figure 36 : le test de l'huile essentielle sur les adultes de *C.capitata*.

1.7. Etude de l'activité antifongique :

Pour déterminer l'activité antifongique de nos souches isolées, nous avons utilisé la méthode de contact direct. Les extraits secs d'acétate d'éthyle, butanol et acétone sont dissous dans du DMSO, puis on additionne 4, 8 et 16 µl de chaque extrait à 20 ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai. Après agitation des tubes, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri en verre de 9 cm de diamètre.

L'inoculation se fait par le dépôt au centre de la boîte d'un disque du mycélium d'environ 0,6 cm de diamètre d'une préculture de 3 à 7 jours.

Une boîte de Pétri contenant 20ml le milieu PDA sans extrait est inoculée pour servir de témoin.

Après incubation à $28 \pm 4^\circ\text{C}$ pendant 2 à 7 jours, en tenant compte de la croissance de témoin.

La même méthode est utilisée pour tester l'activité antifongique avec l'addition de l'huile essentielle avec des concentrations différentes (10, 16 et 20 µl).

L'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) est déterminé par la formule suivante:

Indice antifongique : $(D_t - D_e) / D_t \times 100$ avec :

D_e : le diamètre de la zone de croissance de l'essai ;

D_t : le diamètre de la zone de croissance du témoin.

Pour chaque concentration 3 tests sont réalisés.

Résultats

Nous avons étudié les infestations des oranges par la mouche méditerranéenne *Ceratitis capitata* à partir des piqures ou trous de ponte et des fruits chutés.

L'estimation du taux d'infestation est faite en fonction de la date d'observation, de l'orientation des fruits et de l'arbre échantillonné, durant toute la période de notre travail.

Par ailleurs, l'étude mycologique des oranges prélevées montre une diversité de genres présents avec une différence de pourcentage entre les oranges saines et celles qui sont infectées.

Nous avons également comparé les teneurs en composés phénoliques des oranges saines et infectées, ce qui a permis d'obtenir un certain nombre des résultats se rapportant à la réponse allélopathique de l'orange aux attaques des microorganismes (parasites et champignons).

A la fin, nous avons étudié l'activité antifongique et l'activité insecticide des extraits phénoliques et de l'huile essentielle des oranges attaquées.

1. Etude entomologique

L'estimation du taux d'infestation est faite à partir des nombres de trous de ponte, puis à partir des fruits chutés.

Des élevages sont menés au laboratoire à partir des fruits chutés, ramassés sous les arbres échantillonnés. Ces élevages ont pour but de connaître le cycle biologique de la mouche; à savoir les durées des développements larvaire et nymphal ; les taux de mortalité ; le sex-ratio et enfin pour estimer la longévité des adultes ainsi obtenus.

1.1. Etude de l'infestation en fonction des trous de ponte :

Les taux d'infestation des fruits sont estimés à partir du nombre de trous de ponte, comptabilisés sur les oranges in situ.

1.1.1. Effet de l'orientation :

Le taux d'infestation varie d'une orientation à une autre (**Fig.37**)

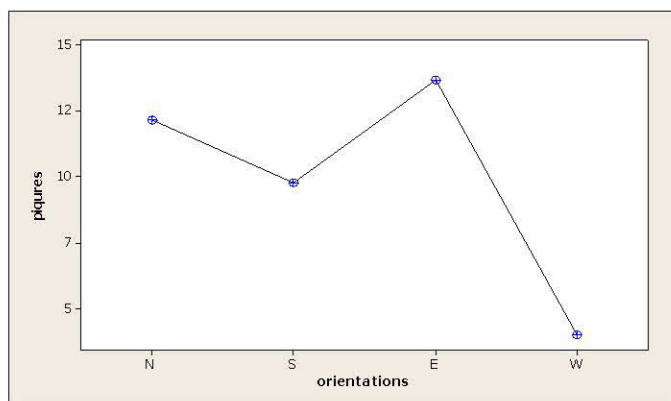


Figure 37 : moyennes de trous de ponte en fonction de l'orientation.

L'infestation des oranges par la cératite ne varie pas d'une manière significative selon l'orientation des fruits dans l'arbre puisque $F_{obs}=1,37$ pour $P= 0,288$.

Cependant, d'après **la figure 37**, les parties nord et est présentent les moyennes les plus élevées de trous de ponte :

source	SC	CM	F	P
orientation	135,9	45,3	1,37	0,288

1.1.2. Effet de l'arbre :

Il existe une différence hautement significative des moyennes pour le facteur arbre, avec $F_{obs}= 9,93$ pour $P= 0,000$.

Source	SC	CM	F	P
orientation	1818,77	43,30	9,93	0,000

Les résultats obtenus montrent que l'arbre a une grande incidence sur l'infestation des fruits, cela est principalement dû à sa phénologie, aux facteurs intrinsèques tels que les substances volatiles qu'il dégage, ainsi qu'à sa position spatiale dans le verger. En effet, souvent les arbres situés aux bords du verger sont les plus attaqués, car ce sont les premiers qui interceptent les mouches provenant des vergers avoisinants (**Fig.38**).

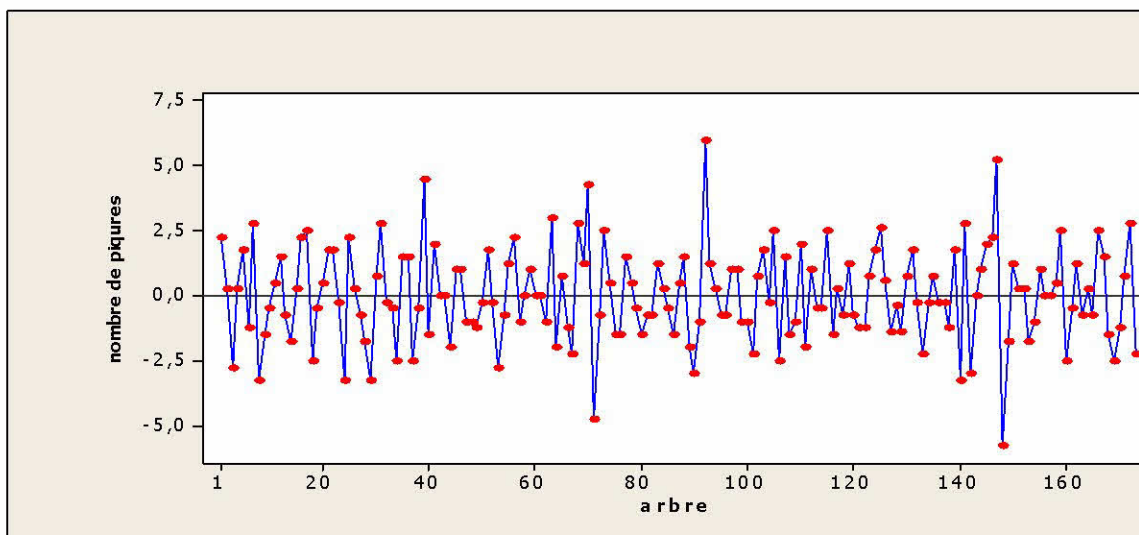


Figure 38 : moyennes de trous de ponte en fonction de l’arbre.

1.1.3. Effet de la date :

L’étude statistique réalisée par l’analyse de variance à un facteur montre qu’il existe une différence hautement significative entre le facteur date et le nombre de trous de ponte avec $F_{obs}=36,74$ pour $P = 0,000$

Source	SC	CM	F	P
date	1661,9	554	36,74	0,000

D’après la **figure 39**, nous remarquons que l’infestation atteint son maximum à la date 1(15/11/2013), puis elle diminue progressivement jusqu’à la date 4(25/12/2013).

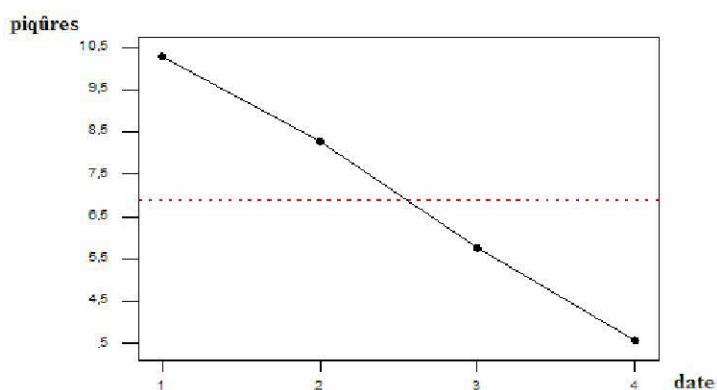


Figure 39: Cinétique des trous de ponte selon la date

1.2. Etude de l'infestation en fonction des fruits chutés :

1.2.1. Effet de l'orientation :

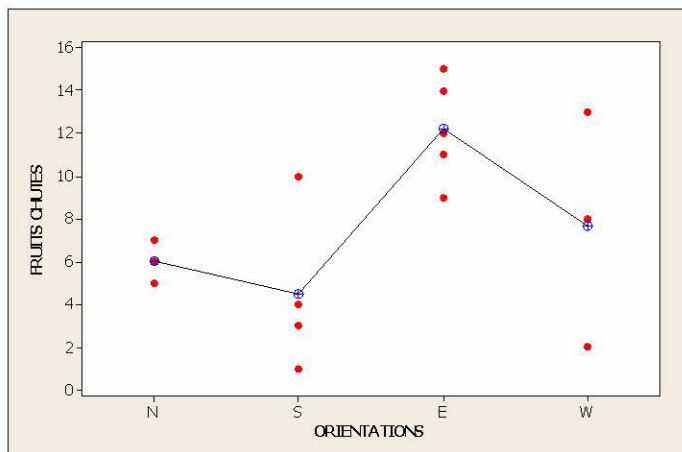


Figure 40 : Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.

L'analyse de variance montre que les fruits chutés varient d'une manière significative d'une orientation à une autre avec $F_{obs} = 4,20$ pour $P = 0,033$.

Les parties est et ouest de l'arbre présentent plus de fruits chutés que les autres.

source	SC	CM	F	P
orientation	149,5	49,8	4,20	0,033

1.2.2. Effet de l'arbre :

D'après la **figure 41**, nous constatons que les infestations varient fortement selon les arbres échantillonnés.

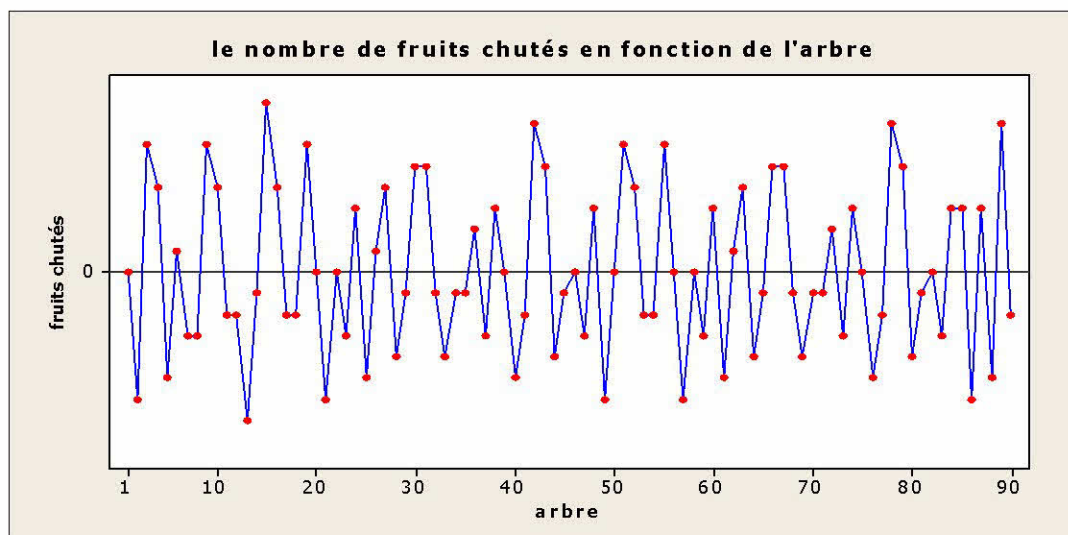


Figure 41 : Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative en fonction des arbres avec $F_{obs} = 4,65$ pour $P = 0,000$.

Comme pour les piqures, l'arbre a un impact important sur le nombre de fruits chutés.

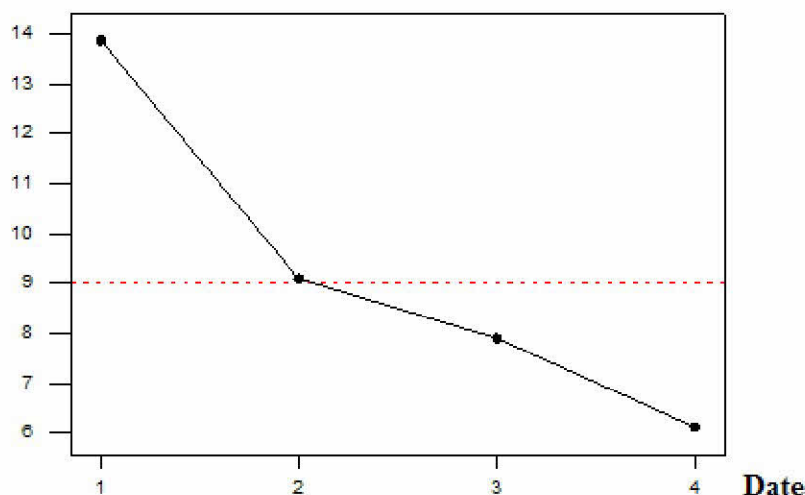
Source	SC	CM	F	P
Orientation	328,00	11,31	4,65	0,000

1.2.3. Effet de la date :

Les fruits chutés varient d'une manière hautement significativement en fonction de la date d'observation. Avec $F_{obs} = 10,81$ pour $p = 0,000$

Source	SC	CM	F	P
Date	515,8	171,9	10,81	0,000

La cinétique des fruits chutés présente un seul pic pour la date 1(15/11/2013) et diminue jusqu'à atteindre le minimum pour la date 4 (25/12/2013) (figure 42).

Fruits chutés**Figure 42:** Cinétique des fruits chutés selon la date

Les cinétiques d'infestation montrent un seul pic bien net à la première date (15/11/2013), ce qui indique la présence d'une nouvelle génération dans le verger d'agrumes étudié, et qui diminue 30 à 35 jours après, ce qui correspond au développement total de la cécidite dans notre région.

1.3. Relation entre les variables liées à l'infestation de l'oranger par *C. capitata*

La relation entre les caractères liés à l'infestation de l'oranger par *C. capitata* est analysée par la recherche de corrélations linéaires pour notre station d'étude.

L'étude de ces corrélations linéaires montre qu'il n'existe pas une relation significative entre les arbres et le nombre de piqures ; et entre les fruits chutés et les piqures ; ce qui est confirmé par les droites de régression linéaire avec $R^2 = 21 \%$ et $R^2 = 1\%$ respectivement, où les points sont dispersés autour de la droite de régression avec $R^2 < 1$ (Fig.43, 44).

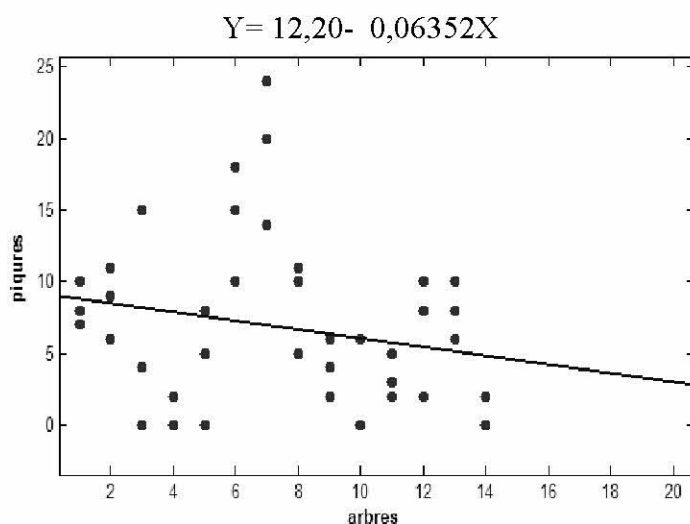


Figure 43 : Courbe de régression relative à la relation des piqûres et des arbres avec $R^2=21\%$

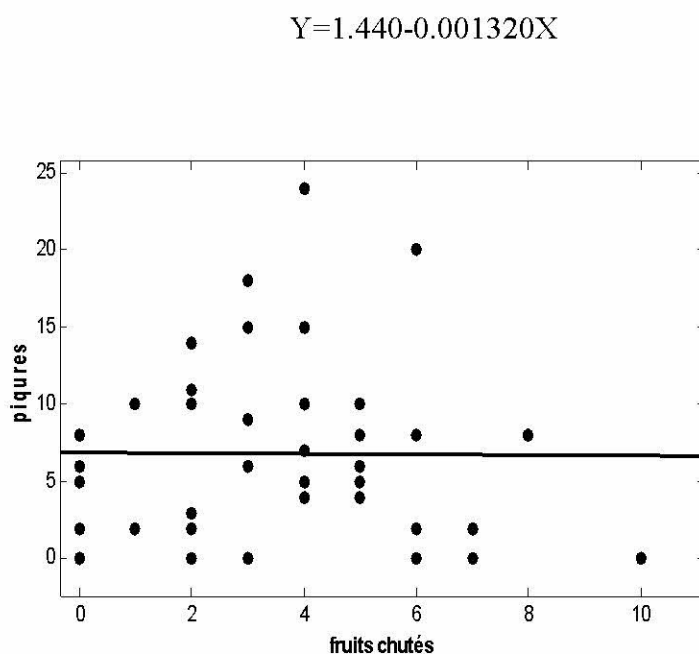


Figure 44 : Courbe de régression relative à la relation des piqûres et les fruits chutés avec $R^2=1\%$

1.4. Biologie des populations de *Ceratitis capitata* à partir des élevages menés au laboratoire.

Les élevages effectués ont pour but la connaissance du cycle biologique de la cératite, les taux de mortalité de ses différents stades, pour estimer sa longévité et son degré de parasitisme aux conditions de laboratoire ; mais comme nous l’avons signalé

précédemment, ils ont été infructueux probablement à cause des températures exceptionnellement froides à cette période. En effet, les conditions climatiques défavorables ont dû inhiber ou bien arrêter le développement de la mouche.

En effet, comme chez tous les Tephritidae, la biologie de *Ceratitis capitata* dépend entièrement du bioclimat dans lequel l'insecte se développe, dont particulièrement les températures et l'hygrométrie.

2. Etude mycologique

L'impact des moisissures sur la qualité des oranges étant de mieux en mieux perçu, le besoin de mieux les connaître conduit à élaborer des méthodes permettant de déterminer la nature des microorganismes présents.

Nous avons trouvé une biodiversité fongique importante qui a révélé, après les analyses effectuées sur les oranges prélevées, huit genres différents : *Alternaria sp.*, *Aspergillus niger*, *Monilia sp.*, *Aspergillus sp.* et quatre genres de *Penicillium sp.*

Pour identifier ces genres, nous avons étudié les caractères macroscopiques et microscopiques de ces derniers (**Tableau 08**).

Tableau 08 : Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés.

Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Genre
Thalle jaune ; Les colonies ont une croissance moyennement rapide ; La texture du thalle est cotonneuse ; Le revers de la boîte est noir.	Les conidiophores sont jaunes ; Le mycélium est cloisonné ; Les hyphes sont septés.	<i>Aspergillus</i>
Thalle noir ; La surface des colonies présente des zones blanches constituant des hyphes et des zones sombres ; le revers de la boîte est brun.	Les conidiophores sont bruns et simples ; Les conidies présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux.	<i>Alternaria</i>
Les colonies ont une croissance rapide ; avec une couleur blanche cotonneuse au départ, devenant poudreuse avec l'apparition de spores noires ; Le revers de la boîte est jaune pâle.	Les hyphes sont cloisonnés ; Les conidies sont brunes à noires et globuleuses ; Les conidiophores sont longs forment à l'apex une vésicule globuleuse ;	<i>Aspergillus niger</i>
Thalle vert ; Les colonies poussent rapidement avec une couleur verte ;	Les conidiophores sont ramifiés et disposés en longue chaîne ; Le mycélium est ramifié ;	<i>Penicillium sp.</i>

La texture est cotonneuse.	Les hyphes sont cloisonnés.	
Les colonies ont une croissance rapide.	Le mycélium est cloisonné ; Les conidiophores sont de couleur grise.	<i>Monilia</i>

Les figures 45 à 52 montrent les aspects macroscopiques et microscopiques des différentes souches mycologiques que nous avons isolées à partir des oranges saines et infectées prélevées du verger étudié:



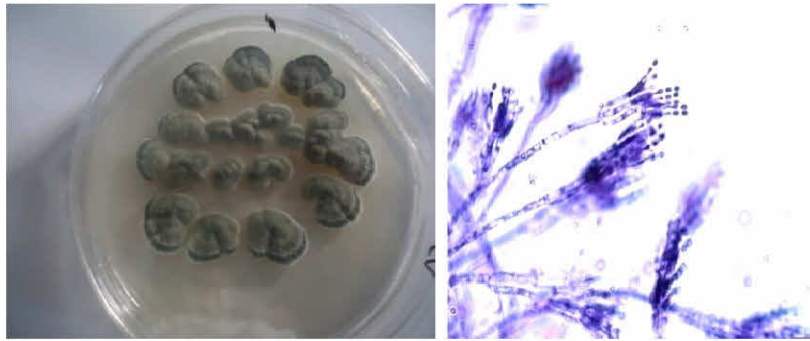
Figures 45: Aspects macroscopique et microscopique d'*Alternaria sp.*



Figures 46 : Aspects macroscopique et microscopique d'*Aspergillus sp.*



Figures 47 : Aspects macroscopique et microscopique de *Monilia sp.*



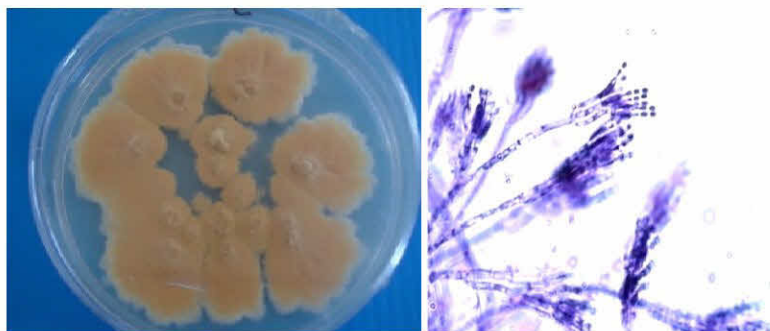
Figures 48 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp1*.



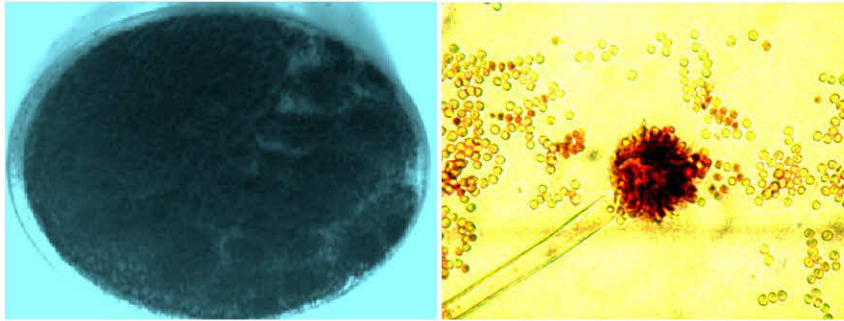
Figures 49 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp2*.



Figures 50 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp3*.



Figures 51 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp4*.



Figures 52 : Aspects macroscopique et microscopique d'*Aspergillus niger*

Tableau 09: pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées.

Genre	Oranges saines %	Oranges infectées %
<i>Alternaria sp.</i>	25	27
<i>Aspergillus sp.</i>	0	5
<i>Monilia sp.</i>	0	2
<i>Penicillium sp1</i>	37	40.5
<i>Penicillium sp2</i>	20	10.5
<i>Penicillium sp3</i>	10	2.5
<i>Penicillium sp4</i>	0	3
<i>Aspergillus niger</i>	8	9,5

Les différents genres obtenus dans les échantillons d'oranger sont représentés dans la figure suivante :

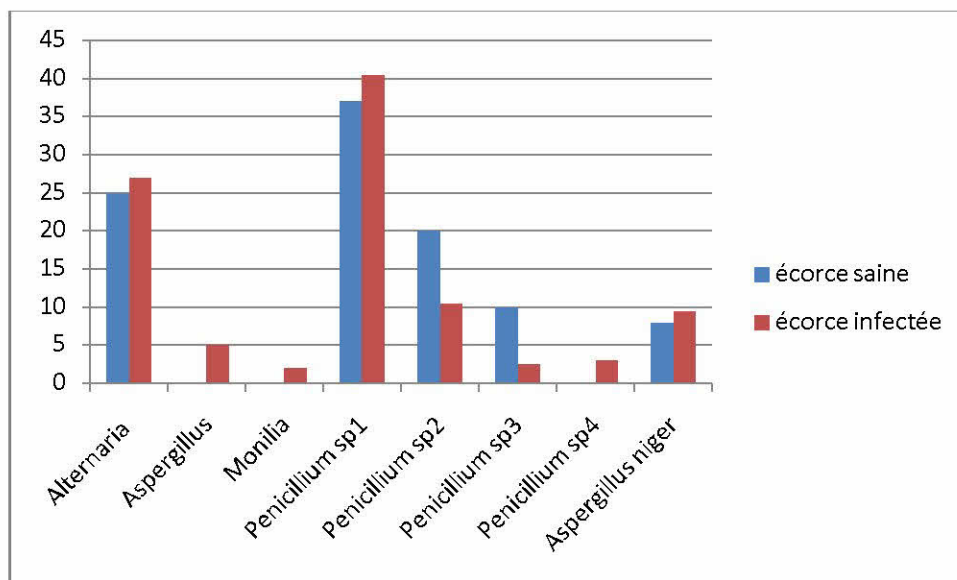


Figure 53 : Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées

Les analyses mycologiques des prélèvements ont montré la dominance de trois genres : *Penicillium sp1*, *Alternaria sp.* et *Penicillium sp2*. Notons également l'apparition de nouveaux genres pour les échantillons infectés : *Aspergillus sp.*, *Monilia sp.* et *Penicillium sp4* (Fig. 53).

3. Etude phytochimique :

Le but de notre étude est l'identification et la détermination des taux de quelques polyphénols synthétisés par l'oranger lors de son agression par *Ceratitis capitata* et les microorganismes tels que les champignons, par une comparaison entre les fruits sains et infectés, afin de savoir si l'oranger utilise son pouvoir allélopathique pour se défendre contre ses bioagresseurs.

3.1. Teneur en eau :

La teneur en eau au niveau de l'écorce d'oranger est de 69,5%, par conséquent le taux de matière sèche est de 30,5%. Selon **Kechaou (2010)**, la teneur en eau chez l'écorce d'oranger est de 74,8% avec un taux de matière sèche de 25,2%(Fig.54).

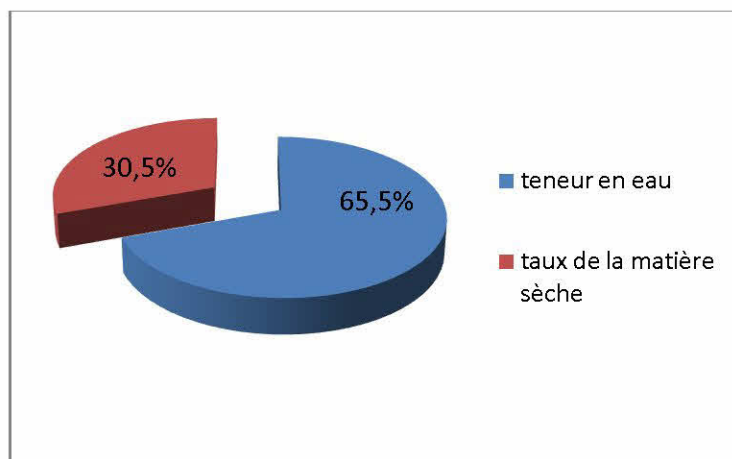


Figure 54 : taux de la matière sèche de l'écorce d'orange

3.2. Tests phytochimiques :

Ces tests permettent de vérifier la présence ou l'absence des composés chimiques tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes...

Nous avons testé la présence des flavonoïdes, tanins, quinones, terpénoïdes et alcaloïdes présents dans l'orange (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'écorce d'orange.

Famille des composés	Epuisement par l'eau chaude	Epuisement par l'éthanol	Epuisement par l'éther di éthylique
Alcaloïdes	-	-	-
Flavonoïdes		+++	
Tanins	++	++	
Saponosides	-		
Quinones			-

- : Test négatif.

+ : Test faiblement positif

++ : Test positif

+++ : Test fortement positif.

D'après les tests réalisés, nous remarquons que les flavonoïdes, les tanins, et les huiles essentielles sont présents en grandes quantités dans l'écorce des oranges prélevées.

Par contre, les alcaloïdes, les saponosides et les quinones sont totalement absents de nos échantillons.

Les flavonoïdes et les tanins étant largement représentés dans l'oranger, nous décidons d'en effectuer les dosages et de déterminer leurs rendements dans notre matériel biologique. En effet, la comparaison des teneurs de ces substances phénoliques chez l'écorce des fruits sains et celle des fruits infectés permet de savoir s'il existe un pouvoir allélopathique chez l'oranger.

3.3. Rendement massique :

La **figure 54** représente les rendements massiques des flavonoïdes et des tanins dans les écorces des oranges saines et infectées.

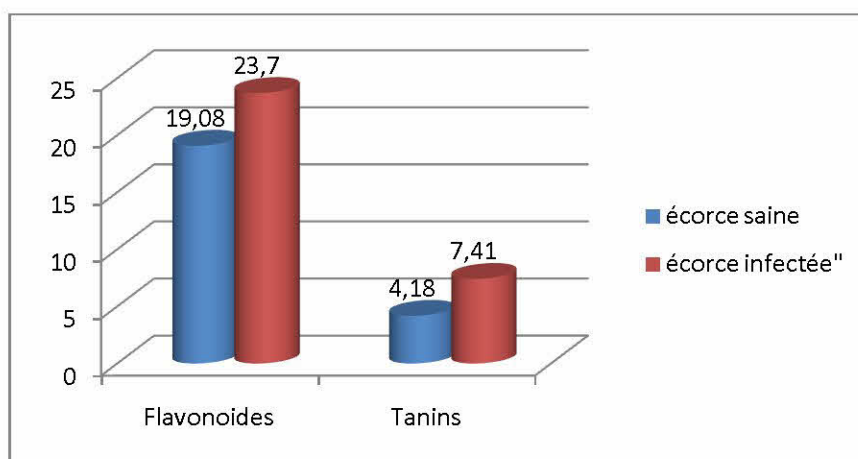


Figure 55: Rendements massiques des flavonoïdes et des tanins.

D'après la **figure 55**, nous relevons un rendement plus élevé au niveau des teneurs en flavonoïdes concernant les oranges infectées (23,70%) par rapport aux oranges saines (19,08%), même constat pour les tanins avec 7,41% pour les infectées et 4,18% pour les saines.

3.4. Dosage des phénols totaux :

Pour avoir une idée globale sur la quantité des polyphénols chez l'oranger (écorce d'orange), nous avons effectué le dosage des phénols totaux, ce qui permet ensuite

d'effectuer le dosage des flavonoïdes et des tanins pour une comparaison entre les fruits sains et les fruits infectés.

Les teneurs en phénols totaux chez les écorces saines et infectées sont illustrées dans la **figure 56**.

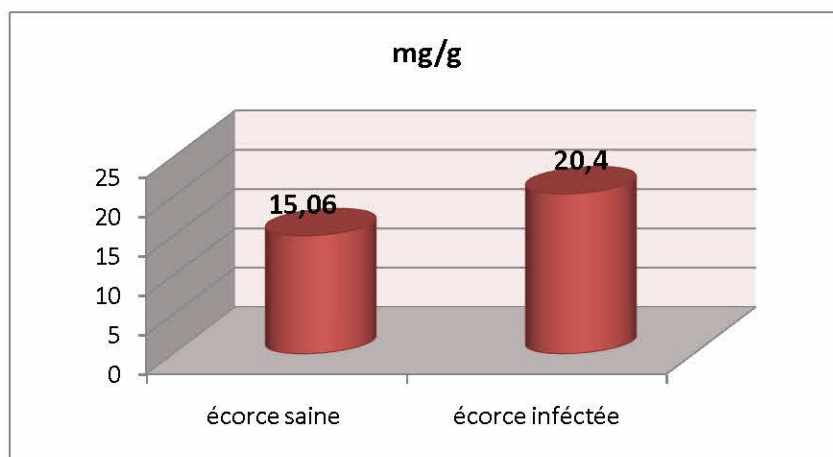


Figure 56: Teneurs en phénols totaux dans l'écorce saine et infectée des oranges.

A partir de cette figure, on remarque que les teneurs en phénols totaux des fruits infectés (20,4mg/g) sont supérieures à celles des fruits sains (15,06mg/g).

3.5. Dosage des flavonoïdes :

La **figure 56** montre que le taux des flavonoïdes chez les écorces infectées (120,7mg/g) est deux fois plus élevé par rapport à celui des écorces saines (65mg/g).

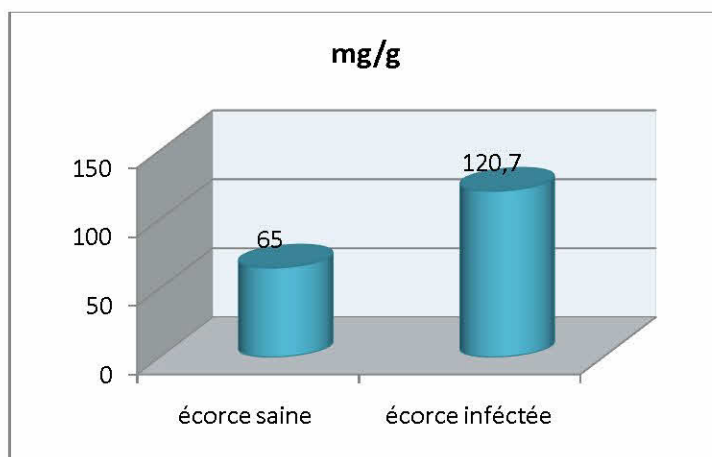


Figure 57 : Teneurs en flavonoïdes des écorces saines et infectées des oranges.

3.6. Dosage des tanins :

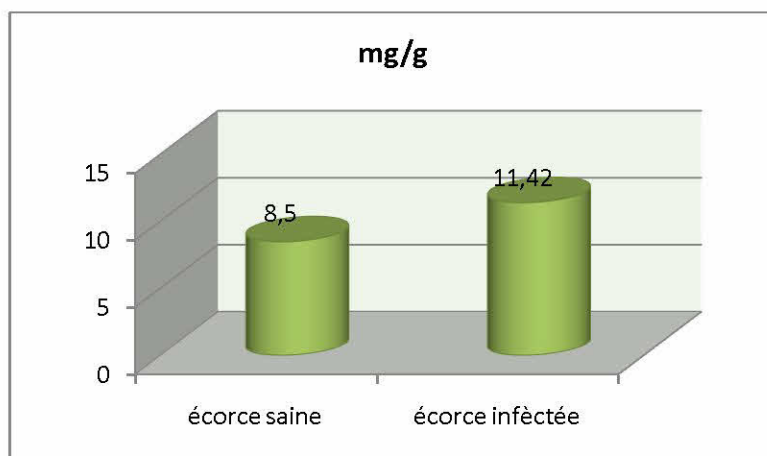


Figure 58 : Teneurs en tanins des écorces saines et infectées des oranges.

D'après la **figure 58**, le taux des tanins chez les oranges infectées (11,8mg/g) est élevé par rapport à celui des oranges saines (8,26mg/g).

L'ensemble des résultats obtenus par les différents dosages effectués montre que les teneurs en composés phénoliques augmentent quand les oranges sont infestées, ce qui prouve que l'oranger se défend chimiquement quand il est attaqué, en sécrétant des substances phénoliques, confirmant ainsi son pouvoir allélopathique.

3.7. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

La chromatographie sur couche mince nous permet d'identifier les différents groupes des composés phénoliques qui ont un rôle dans la défense contre les agressions de l'oranger (**Fig. 59**).

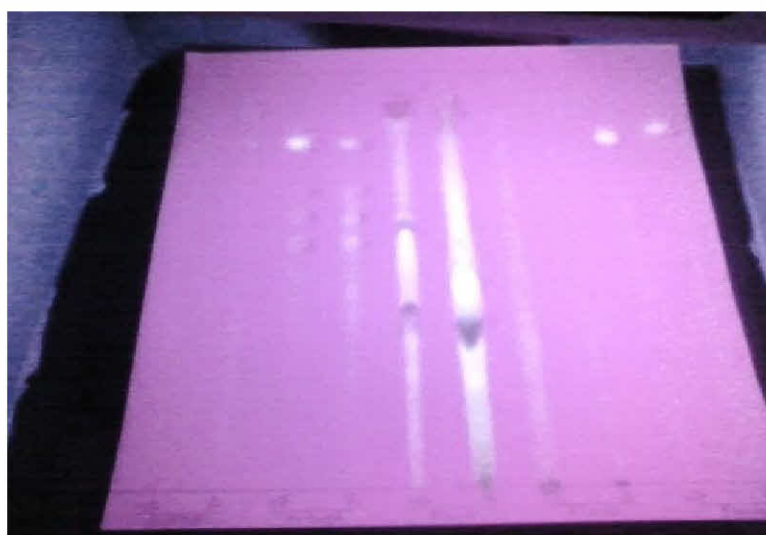


Figure 59 : Photo de la plaque C.C.M pour l'identification des flavonoïdes chez l'orange.

Le tableau 11 présente les groupes identifiés des flavonoïdes avec leurs couleurs et leurs Rf.

Tableau 11 : Résultats de C.C.M pour les extraits des flavonoïdes chez l'orange.

Rf(cm)	Couleur sous UV 365 nm	Type flavonoïde possible (Markham, 1982)
0,51	Violet	Flavones
0,56	Bleu	Acides phénols
0,65	Marron	Phénol simple
0,76	Vert (extrait AcOEt)	

3.8. Rendement des oranges en huiles essentielles :

L'hydrodistillation réalisée sur les zests d'oranges nous donne un rendement en huile essentielle (H. Es.) extraite de 0,72%.

Jeannot *et al.* (2005) et Fuselli *et al.* (2008) ont observé des rendements allant de 0,25 à 0,57% pour l'H.Es de *Citrus aurantium* ; 0,6 à 0,8% pour les H.Es de *C. sinensis* et 0,7 à 0,9 % pour les H.Es de *C. limonum*.

4. Activité insecticide des composés phénoliques extraits:

4.1. Activité insecticide des flavonoïdes extraits à l'acétate d'éthyle (AET) vis-à-vis des adultes de *Ceratitis capitata* :

L'extrait de l'acétate d'éthyle a un effet insecticide plus important sur les adultes de la cératite puisque avec une dose minimale de 5µl/L, nous obtenons un pourcentage de mortalité de 50% en moyenne, et 80% à la dose de 7µl/3ml.

Aux doses de 8µl/3ml et 12µl/3ml nous constatons un taux de mortalité de 100 % pour les trois essais.

Les résultats montrent clairement que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles ou pratiquement nuls. Le tableau 12 suivant illustre les pourcentages de mortalité des populations au stade adulte en appliquant la phase d'acétate d'éthyle sur *Ceratitis capitata* à différentes doses.

Tableau 12: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase acétate d'éthyle des flavonoïdes après 72h.

Groupe N°	Concentration $\mu\text{l}/3\text{ml}$	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	40	50
5	5	30	
6	5	80	
7	7	90	80
8	7	60	
9	7	90	
10	8	100	100
11	8	100	
12	8	100	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Nous avons procédé à une étude statistique comportant une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1), à deux facteurs (ANOVA 2) suivi par le test de Tukey, appliqué à l'ensemble des couples de différences possibles.

L'ANOVA 1 est appliquée pour tester l'homogénéité des moyennes de mortalité, en fonction des différentes concentrations dans la phase acétate d'éthyle.

$F_{\text{obs}} = 17.60$ pour $p = 0.007$, il existe donc une différence statistiquement significative entre les moyennes de mortalité d'un niveau de concentration à l'autre au niveau de confiance de 95.0%.

Le test de de Tukey dégage les groupes non homogènes selon le gradient suivant : le groupe 3, 4, 8 et 9 (Annexes).

Dans cette partie, plusieurs facteurs sont pris en considération comme le temps après traitement (72h), les molécules utilisées et les différentes doses appliquées.

4.2. Activité insecticide des flavonoïdes extraits par le nbutanol (nbut) vis-à-vis des adultes de *Ceratitis capitata* :

L'extrait au nbutanol est moins actif sur les adultes de *C. capitata* que celui de la phase acétate d'éthyle. A la dose de $5\mu\text{l}/3\text{ml}$, on a un pourcentage de mortalité de 40% en

moyenne, alors qu'aux doses de 7 μ l/3ml et 8 μ l/3ml, le taux de mortalité est plus faible que celui de la phase précédente avec des moyennes de 46,66% et 63,33% respectivement. A la concentration de 12 μ l/3ml, le taux de mortalité est de 100 % pour les trois essais (**Tableau 13**).

Les résultats montrent clairement que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles, semblables à ceux de la phase Acétate d'éthyle avec une mortalité de 10% en moyenne.

Tableau 13: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase nbutanol après 72h

Groupe N°	Concentration μ l/3ml	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	30	40
5	5	40	
6	5	50	
7	7	60	46,6
8	7	50	
9	7	30	
10	8	80	63,3
11	8	70	
12	8	40	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Pour cette phase nbutanol, l'ANOVA 1 démontre qu'il y a une différence significative du taux de mortalité entre les différentes concentrations avec $F_{obs}=18,54$ pour $p=0.0011$.

Le classement selon le test de Tukey illustre les groupes 5, 3, 7, 4 et 8 par ordre croissant comme dissemblants (Annexes).

4.3. Activité insecticide des tanins sur les adultes de *Ceratitis capitata* :

L'effet biocide de l'extrait tannique sur les adultes de *C. capitata* est proche de l'effet de la phase nbutanol puisque avec la dose minimale de 5 μ l/3ml, le pourcentage de mortalité est de 40% en moyenne, et de 43,3% à la dose 7 μ l/3ml ; alors qu'à la dose de 8 μ l/3ml le taux de mortalité est de 60% en moyenne (**Tableau 14**).

Nous avons également testé les tanins à une concentration de 12 μ l/3ml, nous avons obtenu un taux de mortalité de 100 % pour les trois essais.

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles, semblables à ceux des deux phases précédentes, avec une mortalité moyenne de 10%.

Tableau 14: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations des tanins après 72h

Groupe N°	Concentration $\mu\text{l}/3\text{ml}$	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	50	40
5	5	30	
6	5	40	
7	7	40	43,3
8	7	50	
9	7	40	
10	8	60	60
11	8	80	
12	8	40	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Pour les tanins, l'ANOVA 1 montre que la différence des mortalités entre les concentrations est hautement significative puisque $F_{\text{obs}} = 17.00$ pour $p = 0.0007$.

L'ANOVA 2 montre qu'il y a une différence significative entre les différents extraits utilisés puisque $F_{\text{obs}} = 8,44$ avec un p calculé égale à 0.007.

La différence est hautement significative entre les concentrations avec $F_{\text{obs}} = 23.35$ pour $p = 0.0000$.

4.4. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L1 de *C. capitata* :

L'effet biocide de l'extrait des flavonoïdes à l'acétate d'éthyle sur les larves au stade L1 de *Ceratitis capitata* est actif dès la dose minimale de $2\mu\text{l}/3\text{ml}$ avec une mortalité de 20% ; un pourcentage de mortalité de 40% en moyenne est relevé à la dose de $4\mu\text{l}/3\text{ml}$, alors qu'à une dose de $8\mu\text{l}/3\text{ml}$, le taux de mortalité est très important avec une moyenne de 66,6% (Tableau 15).

Pour la phase nbutanol des flavonoïdes et les tanins, nous notons des moyennes de mortalité très proches des précédentes donc leurs effets biocides sont pratiquement les mêmes à des doses équivalentes. Pour les tanins, on atteint une moyenne de mortalité de

56,6 % avec la dose maximale de 8 μ l contre une moyenne de mortalité de 60% pour la phase nbutanol (**Tableau15**).

Les taux de mortalité des témoins sont nuls pour les deux phases (Acétate d'éthyle et le nbutanol) des flavonoïdes ainsi que pour les tanins.

Tableau15 : taux de mortalité des stades L1 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.

Concentration μ l	Acétate d'éthyle		nbutanol		Tanins	
	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %
0 μ l	0	0	0	0	0	0
0 μ l	0		0		0	
0 μ l	0		0		0	
2 μ l	20	6,6	10	16,66	30	16,6
2 μ l	0		30		20	
2 μ l	0		10		0	
3 μ l	40	26,6	50	33,3	30	16,6
3 μ l	20		30		10	
3 μ l	20		20		10	
4 μ l	50	40	60	46,6	50	33,3
4 μ l	30		30		30	
4 μ l	40		50		20	
8 μ l	80	66,6	70	60	70	56,6
8 μ l	60		60		40	
8 μ l	60		50		60	

Le tableau précédent montre que c'est la dose de 8 μ l qui permet d'obtenir un taux de mortalité important des larves L1 de *Ceratitis capitata*, dépassant les 50%, à l'aide de ces composés phénoliques.

Le composé phénolique ayant la meilleure activité biocide contre les stades L1, avec la moindre dose, reste la phase nbutanol, suivie de la phase acétate d'éthyle, le moins actif étant l'extrait des tanins.

Les tests statistiques montrent qu'il n'existe pas de différence significative quant à l'efficacité des extraits phénoliques testés avec $F_{obs} = 0.38$ pour $p = 0.5399$ alors que les concentrations utilisées ont un impact significatif sur les taux de mortalité avec $F_{obs} = 11.95$ pour $p = 0.0000$.

4.5. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L2 de *Ceratitis capitata*

L'effet des flavonoïdes et des tanins sur les larves au stade L2 de *C. capitata* est actif à partir de la dose minimale de 4µl/3ml avec un pourcentage de mortalité de 40% en moyenne, (Tableau 16).

Alors qu'à la dose de 8µl/3ml, le taux de mortalité est important avec une moyenne de 60% pour l'extrait d'acétate d'éthyle et nbutanol et 50% pour les tanins.

Les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls pour les deux phases (Acétate d'éthyle et le nbutanol) ainsi que pour les tanins.

Tableau 16: taux de mortalité des stades L2 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.

Concentration µl	Acétate d'éthyle		nbutanol		Tanins	
	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %
0µl	0	0	0	0	0	0
0µl	0		0		0	
0µl	0		0		0	
2µl	0	10	10	13,3	30	16,6
2µl	20		20		0	
2µl	10		10		20	
3µl	10	13,3	40	23,3	30	23,3
3µl	30		20		10	
3µl	0		10		30	
4µl	20	40	30	40	60	40
4µl	60		40		10	
4µl	40		50		50	
8µl	40	60	40	60	30	50
8µl	70		60		80	
8 µl	70		80		40	

À la dose de 8µl/3ml, les taux de mortalité sont plutôt importants, de l'ordre de 60% pour les bio-essais aux phases Acétate d'éthyle et nbutanol.

Pour les tanins, on remarque que les taux de mortalité sont de 50% en moyenne (Tableau 16).

L'Anova 2 montre qu'il n'existe pas de différence significative quant à l'efficacité des extraits phénoliques testés avec $F_{obs} = 0.00$ pour $p = 1.0000$ alors que les concentrations utilisées ont un impact significatif sur les taux de mortalité ($F_{obs} = 10.00$ pour $p = 0.0000$).

Donc l'effet biocide de ces molécules au niveau des deux phases ainsi que les tanins, est pratiquement équivalent à toutes les doses, donc pour avoir une bonne activité biocide, il faut une concentration suffisante (8 μ l ou plus) de l'un des trois extraits testés.

L'étude statistique montre qu'il n'y a pas d'effet de la variation des extraits sur la mortalité des larves aux stades 1 et 2 puisque $p = 0.5399$ pour L1 et 1.0000 pour L2, par contre l'effet des concentrations est prouvé avec $p = 0.0000$ (Annexes).

Le test de Tukey montre clairement les groupes non homogènes (Annexes).

4.6. Effet insecticide des huiles essentielles de l'oranger sur les adultes de la cératite

Nous avons testé la toxicité de l'huile essentielle de l'écorce d'orange sur les adultes de *C. capitata* avec quatre doses différentes (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l), la mortalité devient de plus en plus importante en élevant la dose. Nous avons enregistré une mortalité de 30% en moyenne à la dose de 1 μ l/3ml et de 73,3% à la dose 2 μ l/3ml. Cependant la dose 5 μ l/3ml semble être la plus efficace puisque nous obtenons une mortalité de 100% des mouches de *C. capitata* après 24h d'exposition (**Tableau 17**).

Dans les lots témoins la mortalité moyenne est nulle.

Tableau 17 : taux de mortalité des adultes de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle.

Groupe N°	Concentration μ l/3ml	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	0	0
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	50	30
8	1	20	
9	1	20	
10	2	70	73.3
11	2	70	
12	2	80	
13	5	100	100
14	5	100	
15	5	100	

L'Anova 1 montre qu'il existe une différence significative des taux de mortalité entre les différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange avec $F_{obs}=34,20$ pour $p= 0.00$.

Le classement selon le test de Tukey illustre les groupes 5, 8, et 7 comme non homogènes.

4.7. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L1 :

L'effet biocide de l'huile essentielle sur les larves de stade 1 de *C. capitata* est très faible aux doses de 0,8 μ l, 1 μ l et 2 μ L avec un taux de mortalité de 3,3%, 10% et 16,6% en moyenne respectivement. A partir de la dose de 5 μ l/3ml, l'effet de l'huile essentielle est actif avec un pourcentage de mortalité de 50% en moyenne.

Les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls.

Tableau 18 : taux de mortalité des larves L1 de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.

Groupe N°	Concentration μ l/3ml	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	10	3.3
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	10	10
8	1	20	
9	1	0	
10	2	20	16.6
11	2	10	
12	2	20	
13	5	50	50
14	5	40	
15	5	60	

Les analyses statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les différentes concentrations de l'huile essentielle avec $F_{obs}= 7.20$ pour $p= 0.0057$.

4.8. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L2

Les tests de toxicité de l'huile essentielle sur les larves de stade L2 de la cératite sont actifs dès la dose 2µl/3ml avec un taux de mortalité de 23,33% en moyenne. On a un pourcentage important de mortalité de 63,33% en moyenne à la dose de 5µl/3ml (Tableau 19).

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls.

Tableau 19: taux de mortalité des larves L2 de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.

Groupe N°	Concentration µl/3ml	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	0	0
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	20	10
8	1	10	
9	1	0	
10	2	20	23.33
11	2	20	
12	2	30	
13	5	50	63.33
14	5	70	
15	5	70	

Pour les larves de stade L2, l'ANOVA montre que la différence des mortalités entre les concentrations d'huile essentielle est validée puisque $F_{obs} = 11.39$ pour $p = 0.0011$.

Le test de Tukey a dégagé les groupes non homogènes selon le gradient suivant : les groupes 1 et 3 (Annexes).

4.9. Concentrations létales 50 ou DL50:

Nous avons calculé les concentrations létales à l'aide de logiciel **Polo plus** pour connaître les concentrations qui déterminent une mortalité de 50% pour la population de *C. capitata*, pour chaque extrait testé.

Le tableau suivant présente les concentrations létales 50 pour chaque extrait :

Tableau 20 : Résultats de DL50 (μ l) pour chaque extrait.

	DL50 (μ l)	
	Adultes	Larves
Extrait Acétate d'éthyle	4,252	4,822
Extrait Nbutanol	5,203	4,614
Extrait de Tanins	6,586	5,246
Huile essentielle	1,348	4,534

Le tableau précédent nous permet de conclure que c'est l'extrait Acétate d'éthyle des flavonoïdes qui a l'effet biocide le plus important parmi les composés phénoliques testés, mais pour l'ensemble des extraits testés, c'est l'huile essentielle de l'écorce d'orange qui est la plus efficace puisqu'elle est active aux plus faibles doses, notamment pour les adultes de *C. capitata*.

5. Activité antifongique :

Les extraits phénoliques et l'huile essentielle extraits des oranges prélevées de notre verger étudié sont testés sur les champignons isolés et identifiés pour connaître leurs effets biologiques sur ces espèces pathogènes.

Les tableaux **21**, **22** et **23** montrent les résultats de l'activité antifongique de ces extraits et H.Es d'orange.

Tableau 21 : Effet des extraits tanniques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).

Concentration (μ l/20ml PDA)	<i>Alternaria</i> sp	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Monila</i>	<i>Penicillium</i> sp1	<i>Penicillium</i> sp2	<i>Penicillium</i> sp3	<i>Penicillium</i> sp4
4	20	44,44	50	42,5	50	14,28	53,84	6,25
8	50	55,55	56,23	67,5	66,66	50	69,23	56,25
16	70	61,11	68,75	70	73,33	71,42	76,72	75

Les pourcentages d'inhibition de l'extrait des tanins sur les différentes souches fongiques isolées sont présentés dans la **figure 60** suivante :

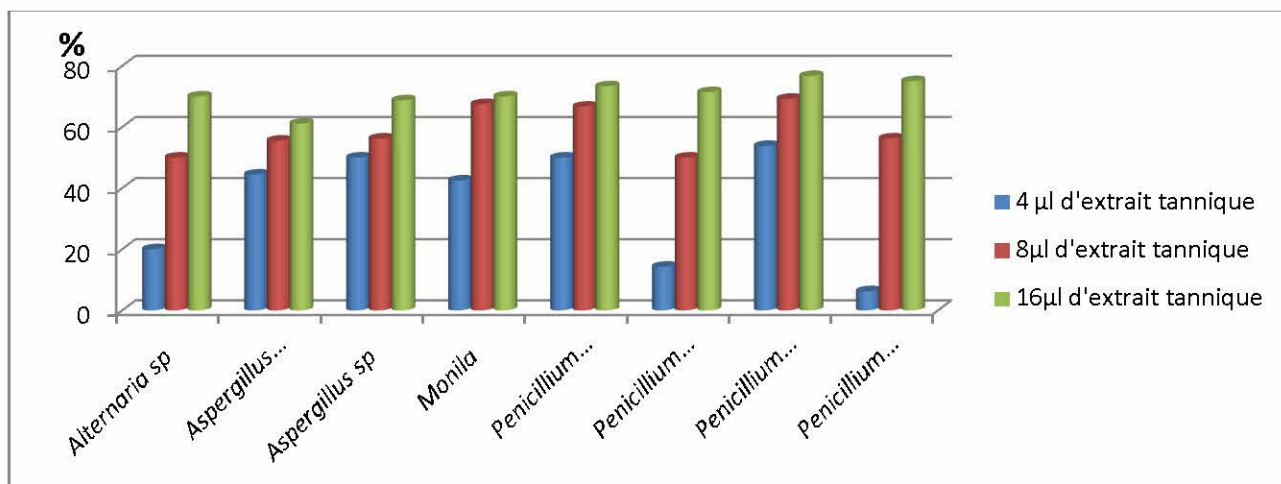


Figure 60: pourcentages d’inhibition des extraits tanniques d’orange sur les différentes souches fongiques.

Tableau 22 : Effet des extraits flavonoïques sur la croissance mycélienne (%d’inhibition).

	Concentration (µl/20mlPDA)	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Monila</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Penicillium sp3</i>	<i>Penicillium sp4</i>
Extrait BuOH	4	10	33,33	62,5	50	16,66	17,14	38,46	37,5
	8	60	55,55	65	77,5	50	78,57	46,15	72,5
	16	60	73,33	75	82,5	60	78,57	69,23	70
Extrait AcOEt	4	0	44,44	62,5	25	33,33	25,71	53,84	0
	8	40	61,11	62,5	75	60	71,42	72,30	62,5
	16	60	72,22	75	80	66,66	80	76,92	72,5

Les résultats de l’effet antifongique par contact direct des différentes souches de champignons isolées et identifiées montrent que la croissance mycélienne est impactée par l’augmentation des concentrations des extraits phénoliques de l’oranger. Pour l’extrait acétate d’éthyle, nous remarquons que *Alternaria et Penicillium sp4* sont résistantes à la dose de 4µl.

En ce qui concerne les extraits flavonoïques, les résultats montrent une activité et de bons effets inhibiteurs avec les concentrations de 8 µl et 16 µl, la réponse pour chaque champignon testé est différente.

Tableau 23 : Effets des huiles essentielles d'orange sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).

Concentration (µl/20ml PDA)	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Monila</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Penicillium sp3</i>	<i>Penicillium sp4</i>
10	48	66,66	56,25	62,5	50	68,57	75,38	43,75
16	60	72,22	62,5	75	60	71,42	80	73,75
20	70	75,55	65	80	66,66	72,85	84,61	76,25

Le **tableau23** montre que l'huile essentielle d'orange possède un bon effet antifongique aux différentes concentrations.

D'après la **figure 61**, on remarque que le pourcentage d'inhibition sur la croissance mycélienne augmente avec l'augmentation de la concentration en H.Es. et cela pour toutes les souches testées.

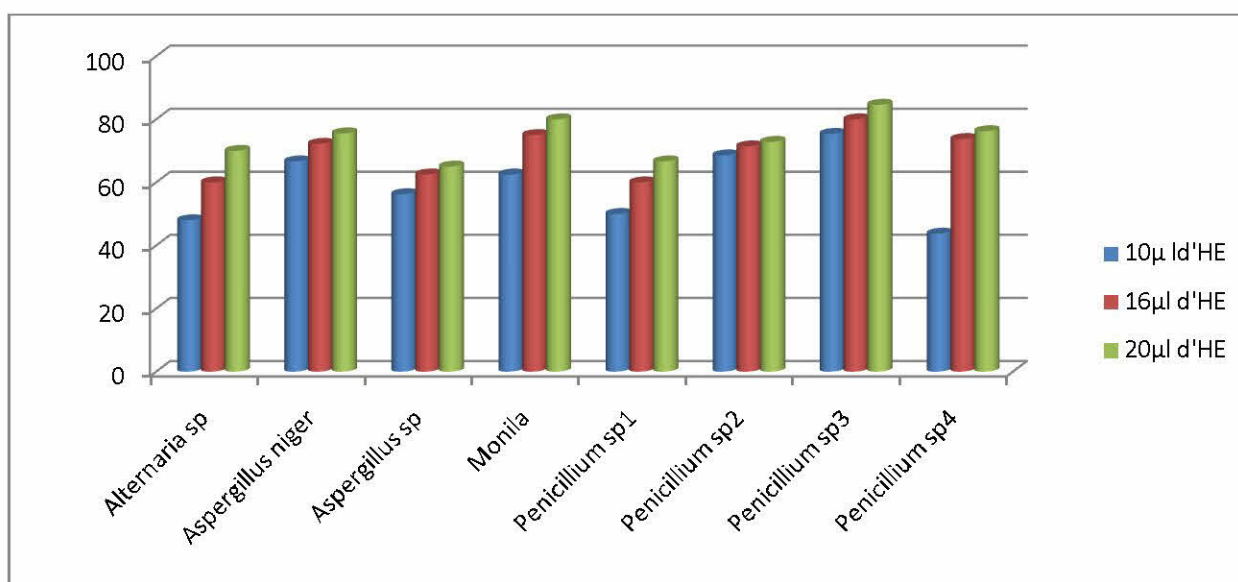
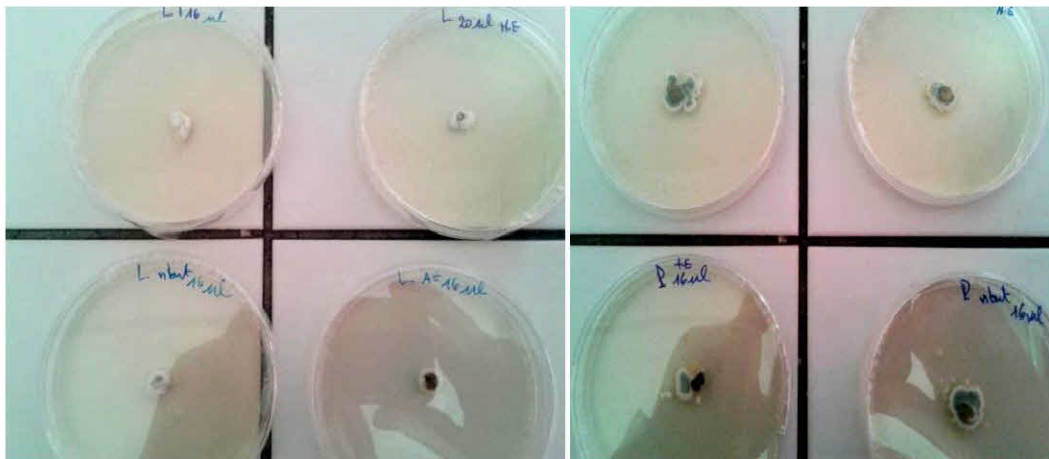


Figure 61: Pourcentages d'inhibition des différentes souches fongiques par l'huile essentielle d'orange.

Les photos ci-dessous montrent l'effet de l'huile essentielle et les extraits d'orange sur quelques souches isolées des oranges du verger étudié.



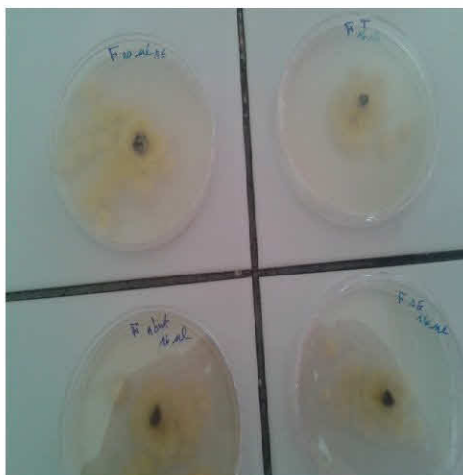
(A)

(B)



(C)

(D)



(E)

Figure 62 : Effets de l'huile essentielle et des extraits tanniques et flavonoïques de l'oranger sur **A**(*Monilia* sp), **B**(*Penicillium* sp1),**C**(*Penicillium* sp2), **D**(*Alternaria* sp) et **E**(*Aspergillus* sp).

Discussion

1. Etude entomologique

La cécidomyie se développe sur plusieurs espèces fruitières avec une très grande adaptation, ce qui n'empêche pas l'influence de différents facteurs écologiques sur sa biologie et sur la taille de sa population.

Pour notre travail, nous avons choisi la variété de l'oranger Thomson (Washington navel) puisque les fruits de cette variété sont les plus piqués. **Abdelli (1996); Smail et Keddouci (2000) et Dekhli (2006)** ont considéré la variété Thomson comme un hôte préférentiel de la cécidomyie. **Sampaio et al. (1984) et Quillici (1993)** ont signalé que l'attractivité exercée par la Thomson serait due à ses composés volatiles émis bien avant la maturation des fruits. Ces composés sont des stimuli olfactifs pour la cécidomyie.

Pour leur part, **Dhouibi et al. (1995)** ont montré que des paramètres chimiques tels que la teneur en huiles essentielles de l'écorce et la nature des substances volatiles pourraient jouer un rôle non négligeable dans l'attraction ou la répulsion du ravageur.

Ali Ahmed- Sadoudi (2007) a rapporté que la cécidomyie manifeste une préférence pour certaines variétés fruitières au sein de la même espèce, en rapport avec le degré de maturité des fruits.

Katsoyannos (1986), Katsoyannos et al. (1997) et Papadopoulos et al. (2001) ont constaté que les adultes de la cécidomyie sont attirés par les fruits volumineux. De même, **Papaj et Opp (1989)** ont signalé que le volume des fruits joue un rôle dans le taux d'infestation, ce qui peut justifier nos résultats sur la Thomson.

Nous nous sommes particulièrement intéressés à l'incidence de deux facteurs abiotiques qui sont l'orientation et la date d'observation et un seul facteur biotique qui est l'effet de l'arbre échantillonné sur les attaques de ce ravageur.

Les attaques de la cécidomyie sur les agrumes semblent être influencées par les facteurs que nous avons choisi de tester lors de ce présent travail ; que l'on considère les trous de ponte ou le nombre de fruits chutés, les résultats restent similaires.

- **Effet orientation :**

L'orientation des fruits dans un arbre semble avoir une légère influence sur les attaques de la cératite et sur les fruits chutés, même si les analyses statistiques n'ont pas révélé un effet significatif de ce facteur sur le degré d'infestation.

A partir des résultats obtenus (**fig.37**), nous constatons que le nord-est est l'exposition la plus piquée pour notre verger par rapport aux autres expositions cardinales.

Les fruits chutés semblent plus impactés par l'orientation comme le montrent les tests statistiques. Des résultats similaires ont été obtenus par **Naâmani et al. (1997)** qui signalent également que les fruits chutés sont la plupart à l'état vert ou mûrissant, ils sont plus du côté est en mai.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Salah (2011)** pour l'orange de Tlemcen, mais ne concordent pas avec ceux de **Sadoudi (2007)** qui a constaté que l'ouest est l'exposition la plus visitée par la cératite, ni avec ceux de **Metna (2009)** qui a montré que les expositions est, sud et centre sont celles qui présentent un taux de fruits piqués le plus élevé.

Contrairement à nos résultats, **Selka (2006)** indique que les parties sud et ouest présentent les fruits les plus piqués.

Selon le travail de **Bachi (2012)**, la partie centre est l'exposition la plus piquée par la cératite.

Chez un autre Tephritidae, la mouche de l'olive *Bactrocera oleae*, **Gaouar (1989 ; 1996)**, indique que l'orientation n'a aucune influence sur le degré d'infestation qu'il soit établi à partir du nombre de piqûres, de galeries, de larves ou des trous de sortie.

- **Effet arbre :**

L'étude statistique de nos résultats montre une hétérogénéité hautement significative des attaques de la cératite et des fruits chutés entre les différents arbres échantillonnés. En effet, chaque arbre émet des substances volatiles de quantité et de qualité variables, donc d'intensités variables, ce qui explique ces différences d'infestations significatives.

Les résultats obtenus indiquent que l'arbre a un impact sur les attaques de la cératite et restent similaires aux travaux antérieurs (Hassani, 2005 ; Selka, 2006 et Salah, 2011) réalisés dans la wilaya de Tlemcen.

Drew (1989) et Metclaf (1990) considèrent que ce sont les odeurs de l'arbre ou kairomones, substances volatiles attractives à longue distance, qui fonctionnent comme leurres des mâles sexuellement mûres et les femelles immatures, les phéromones sexuelles assurant le succès de l'accouplement, stimulent ainsi l'oviposition.

Fletcher (1987) et Duyck (2005) attribuent cette différence d'infestation d'un arbre à un autre à la compétition intraspécifique, les mouches étant plus abondantes que leur ressource nutritive. La compétition intraspécifique la plus importante chez les Tephritidae concerne les femelles sur les fruits. Leur agressivité peut diminuer la fécondité et par conséquent la ponte des œufs, en encourageant les femelles matures à se disperser.

Gaouar (1991) attribue l'incidence de l'arbre à sa position spatiale dans le verger puisque ceux situés aux bords du verger sont souvent les plus attaqués.

Les travaux de Ilias (2013) montrent aussi une hétérogénéité hautement significative des attaques de la mouche de l'olive entre les différents arbres échantillonnés.

- **Effet de la date d'observation.**

Les résultats statistiques obtenus montrent une influence des dates d'observation sur le taux des trous de ponte et celui des fruits chutés.

Les infestations et les fruits chutés varient significativement selon les dates d'observation comme chez Hassani (2005), Selka (2006) et Bensenouci (2007). La date est liée aux variations climatiques dont on connaît l'impact sur la biologie de tous les organismes vivants en général et sur les invertébrés en particulier (Lamy, 1997), il est donc normal que ce facteur ait autant d'influence sur ce phytophage.

- **Cycle de développement :**

La durée de développement de *Ceratitis capitata* aurait dû être déterminée à partir des élevages effectués au laboratoire, or nous n'avons pas pu suivre le cycle évolutif de la mouche en des conditions climatiques particulièrement défavorables au développement de la mouche.

Selon **Duyck (2005)**, les principaux facteurs pouvant affecter la distribution, le développement et la survie chez les Tephritidae sont la température et l'humidité.

Naamani et al., (1997) indiquent que la maturité croissante des fruits stimule l'activité des mouches, ce sont les mauvaises conditions climatiques qui l'inhibent.

Les fruits de notre verger sont très piqués, mais nous avons remarqué l'absence de larves et pupes durant nos élevages, ce qui nous permet de supposer que ce sont les basses températures qui arrêterent le développement larvaire, les œufs sont morts avant leur éclosion ou que les piqûres étaient stériles.

Selon **Weems (1981)**, le développement des œufs, des larves et même des pupes ne peut se faire à 10°C ; selon **Delrio (1985)**, les œufs deviennent infertiles à des températures minimales allant de 4 à 7°C.

Ceci pourrait aussi être dû à la présence des glandes huileuses dans l'épiderme des agrumes qui provoquent une forte mortalité des œufs (**Ortu, 1982**). Ce même auteur a constaté que le nombre de glandes huileuses par cm² de la surface du fruit, joue un rôle important dans la résistance des fruits aux attaques par la cératite.

Dahmane (1996) a signalé que plus de la moitié des piqûres de la cératite sur les agrumes ne sont pas destinées à la ponte mais plutôt à nourrir les adultes.

L'épaisseur de l'écorce et sa compacité augmentent la mortalité des œufs par étouffement et réduisent la progression des jeunes larves (**Ortu, 1982 ; Sampaio et al., 1984 ; Krainaker et al., 1987**).

Loussert (1989) a signalé qu'un épiderme plus épais gêne le développement larvaire. **Delrio (1985)** ajoute que chez les agrumes, les œufs et les larves présentent une très forte mortalité à cause de la toxicité des essences de la peau.

Selon **Dhouibi et al. (1995)**, la mortalité larvaire chez les Citrus, en particulier l'oranger, pourrait être due à la composition chimique de l'écorce des fruits.

De leur côté, **Bertin et al. (1998)** signalent que la faible teneur en eau et les huiles essentielles de la peau entraînent une forte mortalité des œufs et des plus jeunes larves ; ces dernières peuvent être tuées par les sécrétions gommeuses des fruits.

Sampaio et al. (1984) ont signalé que l'acidité du fruit d'orange peut agir sur le taux d'infestation par la mouche méditerranéenne des fruits mais d'une manière non significative,

Nicanor et al. (1990) ont rapporté, pour leur part, que l'acidité agit sur la mortalité larvaire.

2. Etude mycologique

La présence importante et la diversité des espèces de moisissures dans nos prélèvements sont probablement dues aux conditions de l'environnement favorables à leur développement durant la période d'étude ainsi qu'à la maturation des oranges. Nous avons constaté que les moisissures préfèrent un milieu à base organique (PDA) et pH acide.

Dans notre verger étudié, nous avons pu isoler huit genres de champignons : *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Aspergillus niger*, quatre genres de *Penicillium sp.* et *Monilia sp.*

La flore fongique totale dans nos échantillons révèle une dominance des moisissures filamenteuses très sporulantes qui ont un très grand pouvoir de dissémination : *Penicillium*, *Aspergillus* et *Alternaria*. D'après **Manner et al. (2005)**, ces moisissures s'attaquent aux fruits mûrs, ce qui est le cas pour nos prélèvements.

D'après **Lepoivre (2003)**, les champignons filamenteux sont les pathogènes les plus importants par comparaison avec les bactéries et les virus.

Les travaux de **Selka (2007)** et **Salah (2011)** sur l'orange de Tlemcen ont révélé la prédominance d'*Alternaria*, *Penicillium* et aussi la présence d'*Aspergillus niger*, ce que confirme nos résultats.

Les spores d'*Alternaria sp.* sont présentes toute l'année dans les vergers, c'est un champignon phytopathogène des blessures (grattage d'épiderme, plaie de coupe du pédoncule...), mais il pénètre surtout dans les fruits par les ouvertures naturelles (ombilic, cicatrice stellaire, craquelures de base du pédoncule) (**Olsen et al., 2000**). Par conséquent, les attaques des fruits par *Ceratitis capitata* favorisent leur implantation, notamment au

niveau des trous de ponte, ce qui explique nos résultats, le pourcentage d'*Alternaria sp.* dans les échantillons infectés étant supérieur à celui des échantillons sains.

Penicillium sp. est un champignon responsable de plus de 80% de la pourriture des agrumes, toutes les espèces et variétés y sont sensibles (Olsen *et al.*, 2000).

L'espèce *Penicillium digitatum* est responsable de «la pourriture verte» des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores, qui en fin d'évolution, couvrent la totalité des fruits atteints. C'est strictement un parasite de blessures, ne pouvant pénétrer les épidermes intacts (Kim *et al.*, 1991).

Selon Fourie (2004), *P. digitatum* reste actif aux températures habituelles d'entreposage, tandis que *Penicillium italicum* est responsable de la «pourriture bleue» des agrumes, ainsi nommé à cause de la couleur de ses spores. C'est un parasite de l'épiderme intact, plus redoutable de ce fait que *P. digitatum*.

La dominance de *Penicillium* dans nos vergers est observée pour tous les prélèvements. En effet, c'est un champignon filamenteux ubiquiste. Il est largement répandu dans les sols, sur les végétaux en décomposition et dans l'air. C'est aussi un contaminant de laboratoire (El khoury, 2007).

Nous avons obtenu plusieurs aspects macroscopiques du genre *Penicillium*, mais nous n'avons pas pu identifier les espèces par manque de moyens matériels.

Dans le cas d'*Aspergillus sp.*, c'est un pathogène très fréquent sur de nombreuses variétés d'agrumes (Olsen *et al.*, 2000). Dans nos prélèvements, il est présent dans les oranges saines et infectées. Cette présence importante peut être due au fait que les spores d'*Aspergillus* se dispersent facilement puisque c'est un genre ubiquiste, capable de se développer dans le sol, les détritiques et sur les végétaux malades. Les champignons appartenant à ce genre sont responsables de maladies chez l'homme et les animaux (aspergillose pulmonaire, allergies ou mycotoxicoses) (Schuster, 2002).

D'autre part dans notre verger, le genre *Monilia sp* est un champignon qui attaque les arbres, précisément *Monilia fructicola* qui attaque les arbres à noyaux (pêcher, abricotier, cerisier et prunier). Ce genre est présent dans nos échantillons infectés avec un pourcentage faible.

Sur les fruits, l'attaque se manifeste par la présence de petites tâches rondes et brunes puis les tâches s'élargissent et envahissent le fruit entier. Les fruits peuvent tomber à terre ou rester sur l'arbre.

L'apparition du champignon est considérablement facilitée par l'attaque des insectes (dont *C. capitata*). Les conditions climatiques (grêle, vent violent) jouent aussi un rôle important.

3. Etude phytochimique :

La résistance des végétaux aux agressions microbiennes, parasitaires, et autres ...est rapportée dans de nombreux travaux (Staskawicz et al., 1995) ; (Karban et Baldwin, 1997) ; (Macheix et al., 2005). Cette défense allélopathique se fait par leurs composés phénoliques.

Parmi ces composés, on trouve les tanins et les flavonoïdes qui sont une des formes de défense soit par l'astringence et le goût amer dû aux tanins, soit par la pigmentation vive due aux flavonoïdes qui renseignent les agresseurs sur la toxicité de l'agressé, qui est la plante en l'occurrence (Del Río et al., 2003 ; Iannotta et al., 2007) .

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse des principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (Kansole, 2009). Ce pouvoir de défense de la plante par ses propres composés explique son pouvoir allélopathique (Markakis et al., 2010).

Dans notre étude, nous avons choisi l'oranger, plus précisément l'écorce de ses fruits, pour montrer le rôle de quelques substances biochimiques (flavonoïdes, tanins et les huiles essentielles) dans l'interaction avec les pathogènes, appelée effet allélopathique.

L'oranger est très riche en composés phénoliques, la lutte commence par la sécrétion des tanins, qui présentent des teneurs élevées chez l'orange infectée, ce sont des substances constitutives alors que les flavonoïdes sont inductibles, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes, nous en déduisons que ces composés sont

impliqués dans la défense contre les agresseurs mais en intervenant après l'action des tanins.

Les résultats de notre travail montrent que les teneurs en phénols des fruits infectés (20,4 mg /g) sont plus élevées par rapport à celles des fruits sains (15.06mg /g) ; ce qui justifie le rôle de ces composés dans la défense contre les agressions. Selon **Bouarab (2000)** et **Rahioui et al. (2002)**, les composés phénoliques sont synthétisés suite à une agression pathogène.

Plusieurs travaux portant sur l'interaction plantes-pathogènes ont prouvé la relation et le rôle des composés phénoliques dans la défense contre les pathogènes (**Dixon et al., 2002 ; Cayuela et al., 2006 ; Baidez et al., 2007 ; Gaouar Benyelles et al., 2014**). Ces auteurs ont observé l'accumulation de ces composés dans les tissus des plantes après infection par des pathogènes.

Selon **Markakis et al. (2010)**, il y'a une corrélation entre la résistance à l'infection par *Verticillium dahliae* Kleb. et l'accumulation des composés phénoliques chez l'olivier.

D'après **Mclusky et al. (1999)**, chez l'oignon, les granules renferment des composés phénoliques au site de pénétration du pathogène *Botrytis allii*.

Gaceb et Rahmania (2002) montrent que les polyphénols jouent un rôle important dans la résistance du palmier dattier à la fusariose causée par *Fusarium oxysporium*.

Les composés secondaires des plantes sont donc des substances allélochimiques susceptibles d'agir comme des systèmes de défense constitutive directe, permettant aux plantes de réduire les dégâts occasionnés par leurs ennemis naturels. Par exemple, chez l'algue rouge, et suite à une agression des pathogènes, tous les composés phénoliques produits directement sont impliqués dans la résistance (**Bouarab, 2000 ; Bouarab et al., 2004**).

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes chez tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactérienne et antifongique, (**Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004**).

Les composés phénoliques participent dans la défense de la plante soit comme barrière mécanique dans le cas de la lignine, soit comme barrière chimique en agissant comme des antibiotiques ou des fongicides.

Pour les tanins, la teneur des fruits infectés (11,8mg/g) est supérieure à celle des fruits sains (8,26mg/g). Leur effet astringent est connu comme moyen de « dissuasion » contre les attaques par les agresseurs en allélopathie.

Concernant les flavonoïdes, nos résultats présentent aussi des teneurs plus élevées chez les oranges infectées (120,7mg/g) que les oranges saines (65mg/g). Selon **Ezeabara (2013)**, toutes les parties de plantes d'agrumes contiennent des flavonoïdes.

Crozier et al. (2006) ont noté que les flavonoïdes sont présents en haute concentration dans la peau des fruits d'agrumes.

Les flavonoïdes sont l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires qui jouent un rôle important dans le pouvoir allélopathique des plantes. Ils interviennent comme des composés de défense ainsi que dans la signalisation de la reproduction, de la pathogenèse et de la symbiose.

L'analyse par C.C.M des flavonoïdes que nous avons obtenus a montré la présence de flavones, phénols simples et acide phénols, ce qui justifie leur rôle dans la défense contre les microorganismes.

Pour les huiles essentielles, l'hydrodistillation réalisée sur les zests d'orange de *C. sinensis*, nous donne un rendement en Huiles Essentielles extraites de 0,72%. **Jeannot et al. (2005) et Fuselli et al. (2008)** ont observé des rendements allant de 0,25 à 0,57% pour l'H. Es de *C. aurantium* ; 0,6 à 0,8% pour les H. Es. de *C. sinensis* et 0,7 à 0,9 % pour les H. Es de *C. limonum*.

Rega et al. (2003) rapportent que les rendements en H. Es chez Citrus diffèrent selon l'espèce. Cette différence pourrait être expliquée selon **Kelen et Tepe (2008)** par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'H.Es.

4. Activité insecticide

Les plantes ont développé une large variété de mécanismes de défense contre l'attaque des insectes phytophages.

Dans cette étude, nous avons testé biologiquement l'activité insecticide des extraits phénoliques et de l'huile essentielle que nous avons extraits des oranges prélevées de notre verger d'étude, contre les adultes et les larves de la mouche des fruits *C. capitata*.

D'après nos résultats, l'extrait flavonoïque de la phase acétate d'éthyle a un effet biocide plus actif que l'extrait nbutanol et l'extrait tannique chez les adultes, leurs taux de mortalité sont de 100%, 63,3% et 60% respectivement à la dose 8µl/L.

Pour les larves, les résultats ont montré que le composé phénolique ayant la meilleure activité biocide contre les stades L1, avec la moindre dose, reste la phase nbutanol, suivie par la phase acétate d'éthyle, et le moins actif est l'extrait des tanins.

A partir de ces résultats, nous constatons que chez l'oranger, les extraits de flavonoïdes ont un effet insecticide sur les adultes et les larves du premier et deuxième stade de *C. capitata*.

Selon **Furneri et al., 2002**, le mode d'action des composés phénoliques dépend de leur concentration.

Beaucoup de travaux montrent l'activité insecticide des composés phénoliques de différentes plantes. Selon **Bouchelta et al. (2005)**, la réponse des adultes de *B. tabaci* varie entre les composés phénoliques de la tomate, et avec un même composé suivant la concentration testée. Comme dans le cas des œufs, ce sont les alcaloïdes qui provoquent la mortalité la plus élevée, les saponines et les flavonoïdes affectent relativement moins la survie des adultes de *B. tabaci*.

Raveen et al. (2014) ont montré que les extraits des fleurs de *Neriumoleander* (apocynaceae) ont une activité larvicide importante sur *Culex quinquefasciatus* (Culicidae).

L'étude de **Rampadarath (2014)** montre que les espèces de *Jatropha* ainsi que *R. communis* possèdent des propriétés antimicrobiennes et insecticides.

De nombreuses études se développent actuellement pour isoler et identifier des composés de plantes qui ont une activité antibactérienne, antioxydante, antifongique et insecticide. (**Djenane et al., 200.2 ; Bousbia 2004 ; Bouzouita et al., 2008 ; Djenane et al., 2011 ; Bouayad, 2014 ; Tabti, 2015**).

Pour l'activité insecticide des huiles essentielles, notre étude montre que l'huile essentielle d'orange testée a un effet très intéressant vis-à-vis les adultes de *C. capitata*.

Le taux de mortalité chez les stades adultes est plus important que celui des larves. A la dose 5µl 100% de mortalité après 24h d'exposition, alors que chez les larves de stade L1 et L2, à la même dose le taux de mortalité est de 50% et 63.3% en moyenne respectivement.

Nos résultats concordent avec ceux de **Bachi (2012)**, qui montre que les huiles essentielles des agrumes révèlent un effet significatif sur la mortalité des adultes de *Ceratitidis capitata* en augmentant la dose et le temps d'exposition.

L'huile essentielle de citron, s'avère plus efficace que l'huile essentielle d'orange et l'huile essentielle de pamplemousse. Ceci serait dû à la toxicité des composants chimiques de cette huile, notamment le limonène, les terpènes, les aldéhydes et le linolol. Ces composés se trouvent même dans l'huile essentielle d'orange et l'huile essentielle de pamplemousse.

La toxicité de l'huile essentielle de citron vis-à-vis des adultes de *C. capitata*, serait probablement lié au citral et 5,7 diméthoxycoumarines et le linolol.

Salvator et al. (2004) constatent après une série d'expériences menées au laboratoire que le rajout d'une petite quantité de citral, 5.7 diméthxycoumarines et le linolol à l'extrait de zest de citron stocké augmente la mortalité larvaire de la cératite à une moyenne identique que celle obtenue avec l'extrait de citron frais.

L'efficacité de l'huile essentielle d'orange serait probablement due à la composition chimique qui présente un pourcentage de limonène plus élevé.

Selon **Metna (2009)**, les variétés d'orange double fine et Valencia sont les moins infestées (0.23piqures/fruit pour la première variété et 0.5 piqures/fruit pour la deuxième variété). La résistance de ces variétés serait due à plusieurs paramètres comme la teneur en huiles essentielles de l'écorce et la nature des substances volatiles.

5. Activité antifongique

Dans cette étude, les extraits phénoliques et l'huile essentielle d'orange sont testés pour leur activité antifongique dans le but d'utiliser ces extraits dans la lutte biologique.

D'une manière générale, la capacité antimicrobienne des composés phénoliques est bien connue (**Puupponen-Pimiä et al., 2001 ; Markin et al., 2003**).

Les extraits et l'huile essentielle des oranges révélant des activités antifongiques, la réponse pour chaque micro-organisme testé est différente.

Conclusion :

L'ensemble des résultats obtenus confirme le pouvoir allélopathique de l'oranger contre ses bioagresseurs puisque nous avons obtenu des taux de tanins, flavonoïdes et huiles essentielles nettement supérieurs chez les oranges attaquées.

Les différents tests ont confirmé les pouvoirs insecticide et fongicide des extraits obtenus.

Cependant pour pouvoir utiliser les composés phénoliques et les huiles essentielles en tant que biopesticides, il faudra réaliser des travaux complémentaires d'identification des composants actifs et leur mode d'action. Ces recherches devront faire l'objet d'investissements majeurs afin de mieux valoriser et exploiter le patrimoine végétal tout en contribuant à la préservation des écosystèmes.

CONCLUSION

L'infestation de l'oranger par *Ceratitis capitata* représentée par le nombre de piqûres et le nombre des fruits chutés a été étudiée dans la région de Maghnia. Les attaques de ce phytophage montrent des variations spatio-temporelles significatives.

L'étude statistique de nos résultats montre une hétérogénéité hautement significative des attaques de la cératite et des fruits chutés entre les différents arbres échantillonnés et aux différentes d'observation.

Notre région d'étude est très infestée en raison des températures et hygrométries élevées, favorables au développement de la mouche.

L'orientation des fruits dans l'arbre semble avoir une légère influence sur les attaques de la cératite et sur les fruits chutés, même si les analyses statistiques n'ont pas révélé un effet significatif de ce facteur sur le degré d'infestation.

L'étude de la mycoflore des oranges du verger étudié présente une grande diversité des genres des champignons en raison des fortes attaques de *C. capitata*.

Nous avons isolé huit genres de champignons : *Alternaria sp*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus niger*, quatre genres de *Penicillium sp*. et *Monilia sp*. avec une dominance des moisissures filamenteuses très sporulantes qui ont un très grand pouvoir de dissémination.

En effet, ces infections coïncident avec la fin du développement de la cératite, c'est-à-dire avec l'apparition des trous de sortie des larves de l'insecte par lesquels vont pénétrer les microorganismes.

L'étude de la lutte naturelle de l'oranger contre les agressions microbiologiques, par une comparaison des teneurs en composés phénoliques entre les fruits sains et infestés, a permis de connaître le pouvoir allélopathique de cet arbre.

Les résultats de notre travail montrent que les teneurs en phénols des fruits infectés (20,4 mg /g) sont plus élevées par rapport à celles des fruits sains (15.06mg /g) ; ce qui justifie le rôle de ces composés dans la défense contre les agressions.

L'oranger est très riche en composés phénoliques, la lutte commence par la sécrétion des

CONCLUSION

tanins, qui présentent des teneurs élevées chez l'orange infectée, ce sont des substances constitutives alors que les flavonoïdes sont inductibles, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes, nous en déduisons que ces composés sont impliqués dans la défense contre les agresseurs mais en intervenant après l'action des tanins.

Ainsi, il semble évident à travers cette étude que les composés secondaires produits par les systèmes de défense chimique des plantes sont déterminants dans le maintien des relations étroites qui lient ces plantes avec les différents niveaux trophiques.

L'activité antifongique des oranges de la variété Washington navel est étudiée à partir des extraits tanniques et flavonoïques ainsi que de l'huile essentielle de l'écorce d'orange. Tous les extraits ont montré une activité et un effet inhibiteur, la réponse pour chaque champignon testé est différente mais positive ; ce qui nous permet de dire que ces extraits peuvent être utilisés dans la lutte contre les microorganismes.

Les tests de l'activité insecticide contre les larves et les adultes de *C. capitata* ont montré de bons résultats pour les substances phénoliques tant sur les adultes que sur les larves.

L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure qu'il existe une défense naturelle dite allélochimique de l'oranger contre ses agresseurs dans notre verger puisque, en plus des composés phénoliques produits en excès chez les oranges infestés, ses H.ES ont également un haut pouvoir allélopathique.

Pour une étude plus approfondie, nous espérons poursuivre nos investigations pour établir un schéma de lutte intégrée, utilisant ces différents extraits testés in situ, spécifique à notre région.

- Abbott, W.S. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal
- Abdelli O., 1996 :** Etude de quelques aspects de la biologie de la mouche méditerranéenne des fruits *C.capitata* Wiedmann(1924), (Diptera : Trypetidae) dans le parc à bois de (Tizi Ouzou). Mémoire.mag.Inst.Sc.Nat.Uni.Tizi Ouzou.76p.
- Adrian J ; Frangne R ., , 1991.** La science Alimentaire de A à Z, Ed. *Lavoisier, Paris.*
- Ali Ahmed- Sadoudi D., 2007:** Bioecologie de la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Trypetidae) dans quelques vergers de la Kabylie. These de Doctorat. Uni. MOULOUD MAMMERI. T O. 197p.
- Anonyme (2000).** Alteration des agrumes.En ligne <http://www.univ-brest.fr / esmisab /sites sc /Myco alteration –fruits – légumes/ ALTAGR.H.T.M>.
- Atcitrus. (2002) :** La mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*). Asociation Tucumana del Citrus.3p.
- Aubert, B. (1988).** *Le greening, une maladie infectueuse des agrumes. Stratégies développées à l'île de la Réunion. Circonstances épidémiologiques en Afrique/Asie et modalités d'intervention.* (Paris, France ed.): CIRAD.
- Aubert, B. (1992).** Citrus greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2, 817-820.
- Aulong, S., Dury, S., & Temple, L. (2000).** Dynamique et structure floristique
- Audigie CI., Flgarella J., Zonszian F., (1980).** Manipulation d'analyses biochimiques . Ed.doin. paris .Pp 3, 146, 149.
- Bachelot C., Blaise A., Corbel T. et Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles : extraction et comparaison. U.C.O Bretagne : 1-18
- Bachi K., 2012.** Etude de l'infestation de différentes variétés de figuier(*Ficus carica*L.) par la mouche mediterrannéenne *C.capitata*. Effets des huiles essentielles sur la longévité des adultes .thèse de magister.Univ.Mouloud Mammeri.
- Bagnouls F et Gaussen H., 1953.** Saison sèche et indice xéothermique Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse.T. 80, fax. (3-4).pp 193-239.
- Baidez, A.G., Gomez, P., Del Rio, J.A. and Ortuno, A. (2007).** Disfunctionality of the xylem in *Olea europea* L. plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defence mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 3373-3377.

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M.(2008).** Biological effects of essential oils .Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- Balachowsky A.S. & Mesnil L., 1935:** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Ed. Busson, tome 1, Paris, pp: 242 – 253.
- Balashowsky A.S., 1951** lutttes contre les insectes : principes, méthodes, et application. Ed Payot, Paris, 380p.
- Barnett H.L and B.B. Hunter. (1972).** Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Minnesota (USA): 3ème édition.
- Bechchi- Benhbib C.(2001).** Analyse d'huile essentielle d'Ammoides Verticillata (Nunkha) de la region de Tlemcen et etude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de Mag.Algérie. Inst.Bio.F.Sc.Univ.Tlemcen.
- Belliti N., Nida Gijimana M., Sisto C., Guerzoni M.E., Lanciotti R., et Gardini F.(2004).** Evaluation of antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52(23), 6932-6938.
- Bensnoui,Y. (2008)** Contribution à l'étude des infestations des fruits de *Citrus sinensis* variété sanguinelli par *Ceratitiscapitata* et comparaison entre la composition chimique des feuilles saines et infectées de l'orange de la region de Tlemcen. Mémoire d'Ingénieur en écologie Animal. Université Abu BekrBelkaid, Tlemcen.
- Bertin Y., Didier C. & Ducelier D., 1998:** Protection phytosanitaire des agrumes.CIRO-FLHOR. pp : 73 – 76.
- Bonizzoni M ; Malacrida AR ; Gulieimino C.R ; Gomulski L.M ; Gasperi G ; et Zheng L. (2000) :** Microsatellite polymorphism in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Insect Molecular Biology*, 9 :251-261.
- Bouayad Alam S. 2014 :** Activités antimicrobiennes et insecticides de *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse *Tuta absoluta* (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate *Lycopersicum esculentum*.Thèse de Doct.Eco.envir.Uni. de Tlemcen, 150p.
- Bouchelta A., Boughdad A., et Blenzar A.(2005).** Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Biotechnol.Agron.Soc. Environ* (ed) ; 9(4) ; pp :259-269.

- Boudjlida H and N.Soltani. (2011)** : Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* L.(Diptera :Tephritidae).Annals of biological Research. Depart.Ento. Univ.Badji Mokhtar, Annaba, Algeria 2(2) : 104-110.
- Bourab K, 2000.**Bases biochimiques et cellulaires des interactions plante-pathogène dans le système chondruscrisques *Acrochaete operculata*.Doc.Univ.Paris 6.France.
- Bousbia. 2004.** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriande, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de Magistère. Option Sciences Alimentaires, INA.Algérie.
- Bouzouta N., Kachouri F., Ben Halima M., et chabouri M. (2008)** : Composition chimique et Activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juneperus Phoenicea*. Journal de la société Chimique de Tunisie, 10, 119-125.
- Bruneton J, 1999.** Pharmacologie-Phytochimie-Plantes médicinales. Tech.et Doc.Ed. Lavoisier (3° Edition). Paris capitata. Entomol. Exp. Appl. 99, pp: 253-261.
- Cayol J.P ; Coronado P.et Taher M (2002)** : Sexual compatibility in medfly (Diptera : Tephritidae) from different origins. Florida Entomologist 85(1) : 51-57.
- Cayuela, J.A., Rada, M., Rios, J.J., Albi, T., and Guinda, A. (2006).** Changes in phenolic composition induced by *Pseudomonas savastanoi* pv. Savastanoi infection in olive tree: presence of large amounts of verbascoside in nodules of tuberculosis disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **26**: 5363-5368.
- Chouibani M ; Ouizbouben A et Kaack H. (2003)** : Protection intégrée des agrumes. Ed-Ouvrage réalisé par la direction de la protection des végétaux, des contrôles techniques et de la Répression des faudes en coopération avec la GTZ (Projet contrôle Phytosanitaire).13p.
- Chouibani, M.; D. Papacek.; A. Mazih; H. Kaak. 1997:** Protection intégrée des agrumes au Maroc. Proc. 3ème Congrès de l'AMPP. Rabat.
- Christien, V., Navarro, L. Bové, J.M., (2002).** IVIA, Moncada, Valencia, Espagne. INRA et Université Victor Segalen Bordeaux 2,BP.81,33883 Villenave d'Ornon, France.
- Constontino 1950** : Contributo alla conoscenza della masco della.*Ceratitis capitata*(Diptera, Trypetidae)
- Crozier A, Ashihara H, Clifford MN (Eds). 2006a.** Plant Secondary Metabolites and the Human Diet. Oxford: Blackwell Publishing.

- Cox.S.D., Mann C.M., MARKHAM J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., et Wyllie S.G.(2000).** The mode of antimicrobialaction of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*.
- Dahmane A., 1996 :** Contribution a l'étude bioecologique de la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), (Diptera, Tephritidae) dans la region de Mitidja. These de magister en Ecologie animale, Uni des sciences et de la technologie HOUARI BOUMEDIENNE. Alger, 143 p.
- De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. et Marquier P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huile essentielle – Hygiène (Revue officielle de la société française D'hygiène hospitalère),10, 248-251.
- Del Río, J.A., Báidez, A.G., Botía, J.M. and Ortuño, A. (2003).** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chemistry* **83**: 75.
- De Meyer M ; Copeland R.S ; Wharton R.A et Mcpheron B.A(2004) :** On the geographic origin of the Medfly *Ceratitis capitata* (Widemann) (Diptera : Tephritidae). *In Proceedings of the 6th International Fruit Fly Symposium*, pp.45-53.
- Dekhli L., 2006:** Estimation de l'infestation par *Ceratitis capitata* (Wied. 1824) et suivi de la dynamique de ses populations sur différentes espèces et variétés fruitières à Tizi-ouzou et Boumerdes. Thèse. Ing. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques. Uni de Tizi-Ouzou. 90p.
- Delrio G., 1985:** Tephritid pests in citriculture.CEC/Proc. Experts meeting. Acireal; Balkema. Rotterdam. Integrated pest control in citrus. Ed. Recher. CAVALORO and DIMARTINO. pp: 135- 149.
- Dhouibi M.H., Gahbich H. & Saadie B., 1995 :** Evolution de l'attaque des fruits
- Dixon R.A ; Achnine L ; Kota P ; Liu C.J ; Reddy M.S.S and Wang L ., 2002.** The phenylpropanoid pathway and plant defence - a genomics perspective. *Mol. Plant Pathol.*, 3, 371-390.
- Djenane D., Sanchez-Escalante A., Beltran J.A.et Roncalès P. (2002).** Ability of - tocophérol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxydative stability of beefs steacks Packaged in modified atmosphère. *Food chemistry*, 76, 407-415.

- 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.
- Dogjan S.; Turan Y.; Ertuerk H.; Arsian D., 2005.** Characterization and Purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.).*J.Agric.Food Chem.*, 53,776-785.
- Dobremez J.F., Gallet C. Et Pellissier F., 1995.** La guerre chimique chez les végétaux. *La recherche*.26. 912-916.
- Dohou N ., Yani K ., Thahrouch S ., Idrissi Hassani L-M ., Badoc A ., G mira N.(2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides* .*Bull..Soc.Pharm.Bordeaux*.142:61-78.
- Dongmo P.M.J., Kuate J., Fekam Boyom F., Ducelier D., Damesse F., Amvam Zollo P.H., Menut C., Bessière J.M..2002.** Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, *Fruits* 57 (2) 95-104.
- Dorantes L., Colemanro R., Hernandez H., Mota L., Jouillo M.E., Fernandez E et Solano C. (2000).** Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *International Journal Food .Microbiology*, 57, 125-128.
- Dorman H.J.D et Deans S.G.(2000).** Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils *.Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- Dosba F., 2002** implantation de la protection variétale au niveau des opérateurs. UMR 1098, biologie des développements des plantes pérennes cultivées. ENSA.M-INRA, 2 place riala 34060 montpellier Cedex 1.
- Drew, R.A.I. (1989).**The tropical fruit fly (Diptera: Tephritidae) of the Australian and Oceania region. *Memoirs of Queensland Museum*, South Brisbane, Australia.26.
- DSA, 2013.**Direction des services agricoles de la wilaya de Tlemcen.Bilan campagne Oléicole, Tlemcen.
- Dridi B., 1990:** Etude de quelques aspects de la biologie de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Trypetidae) Différenciation entre souche d'élevage et population provenant d'Algérie. Thèse 3^{ème} cycle. Univ. Aix. Marseille III, Fac. Sc. Tech St Jérôme. 113p.
- Duyck P.F. & Quilici S., 2001:** Etude comparee de la biologie du developpement chez trois especes de mouches des fruits (*Ceratitis* Spp.)(Diptera : Tephritidae),

nuisibles aux cultures fruitiers a la Reunion. AMAS : Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius, pp : 105-113.

Duyck,P.F. (2005). Compétition interspécifique et capacités invasives. Le cas des Tephritidae de l' Ile de la Réunion.These .Doc. Univ. La Réunion. pp. 93.

Elaini R., 2003: Contribution au developpement des techniques de lutte contre la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera,Tephritidae) en verger d'agrumes et en post-recolte. These. Ing. en Agronomie, I.A.V. HASSAN II. pp : 4 - 17.

Elhai M, 1974.Biogéographie.Ed.Arnaud Colin Paris, pp404.

Emberger L., 1952. Sur le quotient pluviométrique. N° 234: 2508-2511. Paris.

Eskafi, F.M et Fernandez, A. (1990) Larval-pupal mortality of Mediterranean fruit fly (Diptera : Tephritidae) from interaction of soil, moisture, and temperature. *Environmental Entomology*, 19 :1666-1670.

Eulgem T, 2005. Regulation of the Arabidopsis defence transcriptome.*Trends in Plant Science*, 10, 71-78.

Ezeabara Chinelo A , CU Okeke and Bibian O Aziagba (2013). Flavonoid Content of *Citrus* Species Grown in Awka, Anambra State, Southeastern Nigeria. *Inter J Agri Biosci*, 2(3): 103-107.

Fanny B., 2008. Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la reunion. Thèse de doct.en vétérinaire.(78p). Uni. Paul Sabatien de Toulouse.

FAO/IAEA , 2000.Quantification of tannins in tree foliage.FAO/IAEA.Working document IAEA, Vienna.p26.

Filippi J.B., 2003 : Une architecture logicielle pour la multi modélisation et lasimulation à évènements discrets de systèmes naturels complexes.Thèse doctorat. Uni. Corse PASQUALE PAOLI. 162 p.

Fisher K., Rowe C et Phillips C.2007. The survival of three strains of *Acrobacter butzleri* in the presence of lemon orange and bergamot essential oils and their components in vitro and food. *Letters in applied Microbiology*, 44, 495-499.

Fitt, G.P. (1989). The role of interspecific in the dynamics of tephritid populations. In *Fruits flies, their biology, Natural Enemies and Control*. World Crop pests (Ed A.S. Robinson &G.Hooper), Vol. 3B, Elsevier, Amsterdam.pp. 281-300.

Fletcher B. S., 1987. The biology of Dacine fruit flies. CSIRO,Division of entomology , 55 Hastings Road, Warrawee, New South Wales 2074, Australia

- Fleuriet A and Macheix J.J., 2003.** Phenolic acids in fruits and vegetables. In: Flavonoids in health and disease, Rice-Evans CA, Packer L, eds, Marcel Dekker, New York, p.1-44.
- Fourie, A.(2004).**Biochemical mechanisms for tolerance of *Citrus* rootstocks against *Phytophthora nicotinae*. Submitted to the Faculty of Natural and Agricultural Sciences (Departement of Microbiology and Plant Pathology). University of Pretoria. pp. 107.
- Franchomme, P.; Péroël, D. (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p
- Funieri P. M.; Marino. A.; Saija A.; Uccella N.; Bisignano G., 2002.** In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. Int. J.Antimicrob. Agents 20, 293-296
- Fuselli R., Susana B., Garcia D.L.R., Martin J et Rosalia F.(2008) :** Chemical composition and antimicrobial activity of Citrus essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*, the causal agent of american foulbrood. *World Journal of Microbiology and biotechnology* 24, 2067-2072.
- Gaceb et Rahmania., 2002.**Etude comparative des acides phénols chez deux cultivars de palmier dattier, l'un résistant (taker boucht) et l'autre (Deglat Nour), semble à la fusariose.VIII Journées scientifiques du réseau «Biotéchnologie Amélioration des plantes et sécurité Alimentaire » de l'agence universitaire de la Francophonie.Octobre, Marrakech, Maroc : 255-256
- Gaouar Benyelles , Ilias, C. Beghdad1, M. Gaouar, And K. Medjdoub 2014** Olive antimicrobial activity against its pathogens in Tlemcen region, Algeria *Allelopathy Journal* 34 (1): 133-142 (2014)
- Gaouar N and Debouzie D., 1991.** Olive fruit fly,*Dacus oleae* Gmel.(Dipt.Tephritidae) damage in Tlemcen region,Algeria.J.Appl.Ent.,112,288-297
- Gaouar N, 1989.**Contribution à l'étude de l'infestation de l'olive par *Dacus oleae* Gmel dans la wilaya de Tlemcen, Thèse de Magister, 92p.I.N.E.S Biologie, Tlemcen.
- Gaouar, N. (1996).** Rapport de la biologie des populations de la mouche d'olive *BactroceraOleae*(Gmel) à l'optimisation de son contrôle dans la région de Tlemcen. These.Doc.Etat, Inst.Boil .,Univ, Tlemcen. pp.119.
- Godfray H.C.J.(1994).** Parasitoids : behavioraland evolutionary ecoligy (ed.JR Krebs et TClutton-Brok). *Princeton University Press, Princeton.*

- Grayer R.J and Harborne J.B., 1994.** A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993, *Phytochemistry* 37, pp.19-42.
- Guignard, J.L.(2001).** Botanique Systématique moléculaire. 12^{ème} Ed, Masson. pp 206-209.
- Hadi .,M .(2004)** ; Thèse de Doctorat ; La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques ; Univ. Louis Pasteur ; Pharmacochimie.
- Hadj Sahraoui K., 2007** les agrumes, la production des plantes des agrumes. Ed par l'institut national de la vulgarisation agricole. Revue semestrielle Jan 2007 n°4.
- Harborne J.B and Williams C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry* 55, pp.481-504.
- Harborne J.B, 1973.** *Phytochemical methods*, London. Chapman and Hall, Ltd. Pp.49-188
- Harborne, J.B., Harborne, A.J., 1998.** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Kluwer Academic Publishers, London.
- Harborne J.B, 1980.** Plant Phenolics. In: *Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, pp.329-402.
- Haris, 1989.** *Technique de microculture*
- Harvey I, 2006.** Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2010 - 2037.
- Haslam E, 1989.** *Plant Polyphenols. Vegetables tannins revisited*, Cambridge University Press, Cambridge, and p230.
- Hassani F., 2003** étude comparative de l'infestation de 3 variétés d'agrumes par la mouche méditerranéenne des *Ceratitis capitata* Wied, dans la région de Tlemcen Thèse de Mag. Tlemcen
- Hendel F.(1927)** : Trypetidae, stuttgart. Vol.1.221p.
- Iannotta, N., Noce, M.E., Ripa, V., Scalercio, S. and Vizzarri, V. (2007).** Assessment of susceptibility of olive cultivars to *Bactrocera oleae* (Gmel.) and *Camarosporium dalmaticum* (Thüm.) attacks in Calabria. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* Vol. 42: 789-793.
- Ibrahim M.A., Kainulainen P., Afatuni A., Tilikkala K. et Holopainen J.K., 2001.** Insecticidal, repellent antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils :

with special reference to limolene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10,3, pp.243-259.

Ilias F., 2013. Lutte naturelle de l'olivier contre le ravageur *Bactrocera oleae* (Gmel.) (Diptera : Tephritidae) et la microflore qui lui est associée. Activité insecticide d'une souche locale de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche. thèse. doc.

Inderjit and Keating, K.I. (1999). Allelopathy: Principles, procedures, processes and promises for biological control. *Advances in Agronomy* **67**: 141-231.

INRA., 2002 Etude des variétés d'agrumes, revue de L'INRA n°115 Extrait de l'INRA mensuel pp 6-9.

INRA., 2005 Symposium international sur les mandarines en Méditerranée INRA-CIRAD San Giuliano.

Jacquemond C ; Curk F ; Ezzoubir D ; Kabbage T, Luro Follitruft P., 2002. Les portes greffes, composante clef d'une agrumiculture durable SRA INRA- CIRAD, San Giuliano, 20230 San Nicolao, Corse, France.

Jaset-Dongmo P.M ; Tatsadjen N.L ; Tchinda Sonw E ; Kwate J ; Amvam Zollo P.H. et Mienut.C.(2008). Antiradical potentiel and antifungal activities of essential oils of the leaves of *Eucalyptus Soligna* and *E.camaldulensis* against *phaeroramularia angalensis*. *African Journal of Biotechnology*, 7, 4045-4050.

Jeannot V., Chahboun J., Russell D. et Barel P.(2005). Quantification and determination of chemical composition of essential oil extracted from natural orange blossom water (*Citrus auranticum L. ssp.auranticum*). *International Journal of Aromatherapy*, 15(2),94-97.

Kansole M., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Katsoyannos B.I., 1986: Effect of color properties on the selection of oviposition site by *Ceratitis capitata*. *Entomol. Exp. Appl.* 42, pp: 187 – 193.

Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A. & Papadopoulos N.T., 1997: Response of *Ceratitis capitata* to citrus chemicals under semi-natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82. pp: 181–188.

- Keane S et Ryan M.F, 1999.** Purification characterization and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* L. *Insect biochemistry and molecular biology* Vol 29(12), Pp 1097 -1104.
- Kechaou N. (2010)** Valorisation des ressources naturelles et de sous produits agroalimentaires (feuilles d'olivier, caroube, écorces d'agrumes, écarts de triage des dattes,...) *Ecole Nationale d'ingénieurs de Sfax*.
- Kelen M. et Tepe B. (2008).** Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three *Salvia* species from *Turkish flora*. *Bioresource Technology*, 99, 4096-4104.
- Khimoud D. et Louni A. (2008).** Estimation de l'infestation des différentes variétés d'agrumes par *Ceratitis capitata* Wied., 1824 (Diptera ; Trypetidae) en fonction de l'exposition dans différents vergers de la région de Tizi-Ouzou. *Memoire d'ing. en écologie animale. Univ. Mouloud Maamri de Tizi-ouzou*. 67p.
- Khoury N., 1998:** Etude préliminaire de la repartitions et de la dynamique des populations de la mouche méditerranéenne des fruits (*C. capitata* Wied.) dans différentes biotopes au Liban. *Mémoire (D.E.A), Insti de recherche agronomique Libanais Fanar*, 153p.
- Keïta S.M. Vincent C., Schimidt J.P., Arnason J. T., Belay A., 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, **37**, 339-349.
- Kim HJ, Chang WK, Kim MK, Lee SS, Choi BY (2002).** Dietary factors and gastric cancer in Korea: a case-control study. *Int J Cancer* 2002 February 1;97(4):531-5.
- Kim, J.J., Ben Yahoshua, S., Shapiro, B., Henis, Y. & Carmeli, S. (1991).** Accumulation of scoparone in heat-treated lemon fruit inoculated with *penicillium digitatum* Sacc. *Plant Physiology*, 97. pp. 880-885.
- Koba K ; Sanda K ; Raynaud C ; Nenonene Y.A ; Millet J ; et Chanmont J.P. (2004).** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Vis à vis des germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annales de Médecine vétérinaire*, 148, 202-206.
- Krainacker D. A., Carey J. R., Vargas R. I., 1987:** Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Ecologia*. Springer-Verlag. Vol. 73. pp: 583 – 590.

- Kuda T., Iwai A. , et Yano T (2004).** Effet of red pepper *Capsicum annum var.* Conides and garlie *Allium sotivum* on plasma liquide levels and *cecalmicro flora* in nicefed beef tallou. *Food Chemistry Toxicology* 42, 1695-1700.
- Lachiheb A.2008 :** Optimization de la dose d'irradiation dans le cadre d'un projet de lutte contre *Ceratitis capitata*. Mémoire d'ing ; Ecole sup.d'agri. de Mograne, 122p.
- Lamy M., (1997)** Les insectes et les hommes. Ed. Albin Michel, Paris. pp. 96.
- Larpent J.P., (1990)** Moisissures utiles et nuisibles.Importance industrielle, 2 éd, Masson, Paris, 512p
- Lekchiri A. 1982 .** La cératite au Maroc. CEC/IOBC Symposium Athène Ed.R. Cavallero : 571574.
- Lepoivre, P.(2003).** Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte, de université, *les Presses Agronomiques de Gembloux*.
- Loudyi W. D. E. M ; Skiredj A ; Elattir H., (2003) Fiches techniques: le bananier, la vigne et les agrumes n°109**Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II,Rabat.
- Loussert R., 1989 -**Les agrumes, production. Ed.Sci.Univ.,Vol2 ,Liban,280p.
- Macheix J.J; Fleuriet A and Jay-Alleman C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires Romandes.p192.
- Manach C. et al.,(2004).** **Polyphénols :** food sources and bioavailability. *Am.J.Clin.Nutr*, 79, 727-747.
- Manner, H.I., R.S.,Easton Smith V. Elevitch, C.R. (2005).** Citrus species (Citrus) , ver.1.1. In : C.R Elevitch (ED). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii, 31p.
- Manzanero Majil, V.(2004)** *Citrus tristeza virus* (CTV) : its developpent in Belize. Caraphin News, no.24, June 2004, 1-4.
- Mariau, D. (1999).** *Les Maladies des Cultures Pérennes Tropicales* (CIRAD ed.).
- Markakis E.A ; Tjamos S.E ; Antoniou P.P ; Roussos P.A ; Paplomatas E.J and Tjamos E.C., 2010.** Phenolic responses of resistant and susceptible olive cultivars induced by defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes. *Plant Dis.* 94:1156-1162.
- Mazih A., S. Eltazi, I. Srairi, L. Abaha, S. Sahil, H. Bouguiri, M. Miloudi, Y. Moubaraki, Y. Bourachidi & T. El Mourhir. 2007b.** Field experiments towards the

development of and strategy for the control of the MedFly (*Ceratitis capitata*) using ADDRESS (SyngentaAgro) in Citrus orchards. IOBC/wprs . Working Group Integrated Control in Citrus Fruit Crops, meeting Catania (Italy), 5-7 November, 2007

McLusky S.R; Bennett M.H; Beale M; Lewis J; Gaskin P and Mansfield J.,1999. Cell wall alterations and localized accumulation of feruloyl-3'-methoxytyramine in onion epidermis at sites of attempted penetration by *Botrytis allii* are associated with actin polarisation, peroxidase activity and suppression of flavonoid biosynthesis. *The Plant Journal*, 17(5), 523–534.

Metclaf, R.L. (1990). Chical ecology of Dacinae fruit flies. *Ann. Entomol. Soc. Ann*, 83: 1017-1030.

Metna F.2009 : Etude de la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae), dans différentes vergers de la région de Tizi Ouzou et de Boumerdes.Mémoire Mag. Inst.sc.Nat.Univ.Tizi Ouzou .P110.

Milane H. (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. These de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p

Mohammedi S., Bala Subramanian S., Yan S., Tyagi R.D., and Valéro J.R. (2006) Molecular screening of *Bacillus thuringiensis* strains from wastewater sludge for biopesticide production. *Process Biochemistry*, 41: 829-835.

Moreau C.(1974). Moisissures toxiques dans l'alimentation.2^{ème} Ed.471p.,Masson et Cie, Paris.

Naâmani, K.,Herbaut, C., El Koch, A.,Bakr, A. &Chemsseddine, M. (1997). Recherches sur la multiplication de *Ceratitis capitatis* dans la foret d'Arganier au Maroc.FAO/IAEA International Conference on Area-Wide Control of Insect Pests. pp. 28.

Ngamol ., et Hance T., 2007. Diversité des ravageurs de denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*.

Nicanor J., Roy T. & Susumu N., 1990: Host plants of Mediterranean fruit fly (Diptera: Trypetidae) on the Island of Hawaii (1949-1985 Survey). *J. Economic Entomol.* Vol. 83 N°5, pp:1864-1878.

Nunez B.L., 1987: La moska del mediterreo. CA: Informa (Enera. Febrero maio), pp: 9 – 17.

- Olsen M., Matheron, M., McClure, M. & Xiong, Z. (2000).** Diseases of *Citrus* in Arizona. Cooperative Extension. College of Agriculture and Life Sciences. The University of Arizona. pp. 13.
- Omidbeygi M ; Barzegar M ; Hamidi Z et Naghdibadi H. (2007) :** Antifungal activity of tyme, Summer savory and clove essential oils againts *Aspergillus xavus* in liquid medium and tomato poste-Food Control, 18, 1518-1523.
- Ormières, R., Pralavorio, R., Yamvrias, C. et Laudeho, Y. (1977).** *Octospora muscaedomestica* (Fue.) (Microsporidia) parasite de *Ceratitis capitata* (Wied) et de *Dacus olea* (Gmel.) (Diptera : Tephritidae). *Biol. Gallo-hellen*, 6 : 259-270.
- Orts R ; et Giraud M. (2006) :** Protection intégrée pommier-poirier. 2^{ème} éd : centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. 324p.
- Ortu S., 1982:** Observations on the temporary resistance of fruits of some species of citrus to the lacks of *Ceratitis capitata* WIED. in Sardinia. *Studi. Sassaesi*. 7 Ref. pp: 159-172.
- Oukil S., 1995:** Effets des insecticides et des radiations ionisantes en relation avec la variabilité (Diptera : Trypetidae). Thèse 3ème cycles. Univ. Aix. Marseille III, Fac. Sc. Tech St Jérôme. 138p.
- Ouraini D ; Agoumil A ; Ismail-Alaoui M ; Alaoui K ; Eherrah Y ; Amrani M. et Bellabas M.A (2005).** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermaphytes. *Phytothérapie*, 4, 147-157
- Oussou K.R ; Coffi K ; Nathalie G ; Seriyolou ; Gerard K ; Mireille D ; Yao In ; Gilles F. et Jean-claude C.H (2004).** Activités antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Cote d'Ivoire. *Compte rendus de chimie*, 7, 1081-1086.
- Ozgonen, H. & Karaca, G. (2005).** First report of *Alternaria mali* causing necrotic leaf spot of apples in Turkey. *New Disease Reports*. Volume 12.
- Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A. & Hendrichs J., 2001:** Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitis capitata*. *Entomol. Exp. Appl.* 99, pp: 253-261.
- Papaj D.R. & OPP S.B.R. J., 1989:** Cross inductions of fruit acceptance by Medfly par *Ceratitis capitata* en fonction de la position sur l'arbre et du degré de maturité des oranges. *Fruits*. Vol 50. N°1. pp : 39 – 49.
- Paris , R ; et Moyse, H. (1969).** Précis de matière médicinale. Paris : Masson.

- Pauli A.(2001).** Antimicrobial properties of essentials oil canstituants *International Journal of Aromatherapy*, 11, 126-133.
- P.D.A.U : Plan Directeur D'aménagement Urbain, 2006.**Tlemcen.
- Praloran ., 1971.** Les agrumes, techniques agricoles et production tropicale. Edition Maison neuve et Larox, Paris, T21 XXI et XXII, 665p.
- Quilici, S. (1999)** Fruit flies, D. Vencenot, SUAD/CIRAD: 3p.
- Prudent D., Perineau F., Bessiere J.M., Michel G.M.et Baccou J.C.(1995).** Analysis of the essential oil of with oregaw evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. *Journal of Essential oil Research*, 7, 165- 173.
- Puupponen-Pimiä R; Nohynek L; Meier C; Kähkönen M; Heinonen M; Hopia A and Oksman- Caldentey K.M., 2001.**J. Appl. Microbiol; 90, 494-507
- Quilici S., 1993 :** Programme de recherche et d'action sur la mouche mediterraneenne des fruits a l'ile de la Reunion. *Fruits*. Vol. 49. Special Vergers tropicaux . pp : 28- 41.
- Quillici, S., Franck, A., Peppuy, A., Dos Reis Correia, E., Mouniama, C.et Blard, F. (2002).** Comparative studies of courtship behavior of *Ceratitis spp.* (Diptera : Tephritidae) in Reunion island. *Florida Entomologist*, 85 : 138-142.
- Rahioui B ; Charafi J ; Boulouha B ; El Boustani ;Khadri B ; Elmiane and El-Modafar C.,2002.** Role des polyphénols dans la résistance à la maladie de l'œil de paon causée par *Cycloconium oleaginum*.VIII Journées scientifiques du réseau « Biotechnologies Améloiration des plantes et sécurité Alimentaire »de l'agence universitaire de la Francophonie. Octobre, Marrakech, 263-265.
- Ramade F., 2003:** Elément d'écologie fondamentale, 3eme edition DUNOD, Paris, 690p.
- Rampadarath Sillma , Puchooa* Daneshwar , Vijayanti Mala Ranghoo-Sanmukhiya (2014).** A comparison of polyphenolic content, antioxidant activity and insecticidal properties of *Jatropha species* and wild *Ricinus communis L.* found in Mauritius. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014; 7(Suppl 1): S384-S390
- Raveen R., Kamakshi K.T., Deepa M. , Arivoli S. and Samuel Tennyson.(2014).** Larvicidal activity of *Nerium oleander L.* (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research.* ; 1 (1): 38-42

- Rega B., Fournier N., Guichard E et Russell R.(2003).**Citrus Flavour .Journal of agricultural and Food Chemistry,51,117-133.
- Regnault-Roger C., 2002.** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire, *In* : Philogène B.J.R, Regnault-Roger C. & Vincent C., coord. *Biopesticides d'origine végétale*. Paris : Lavoisier-Éditions Tec & Doc, 19-39.
- Rey, D., Cuany, A., Pautou, M. P. et Meyran, J. C. 1999.** Differential sensitivity of mosquito taxa to vegetable tannins. *Journal of Chemical Ecology* **25**(3): 537-548.
- Rice, E.L. (1984).** Allelopathy. *2nd ed., Academic Press, Orlando, FL, USA.* pp. 67-68.
- Richard, H. (1992).** Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier.Paris. 339p
- Rigamonti I., 2005:** *Ceratitis capitata* in Lombardia. Quaderni Della Ricerca N° 47. Copyright Regione Lombardia. 40p.
- Salah, Z.(2011)** Essais de lutte biologique par *Bacillus thuringiensis* contre la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wied (Diptera :Thephritidae) dan la région de Tlemcen.the.Mag.108p.
- Salvatore A, Borkosky S ; Willin K.E.2004 :** Toxic effects of lemon peel. Constituents on *Ceratitis capitata*, *Journal of chemical ecology* A.2004,Vol 30 n°2 : 323-333.
- Sampaio G.H., Myazaki I. & Olivera D.A., 1984:** Possible factors determining the degree of susceptibility of certain citrus varieties to attack by fruit flies. *Biologico. Ref* 5. pp: 273-284.
- Schuhmacher A. et Reichiling P. (2003).** Virucidal effect of Peppermint oil on the enveloped viruses. Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 in vitro. *Phytomedicine*, 10 (6-7) 504-510.
- Schuster M, 2002.** Informing Cultural Policy: The Research and Information Infrastructure. *Journal of Cultural Economics*, 2004, vol. 28, issue 1, pages 83-88.
- Selka, O. (2007).** Etude des infestations des fruits de *Citrus sinensis* var. *Sanguinelli* par *Ceratitis capitata* et par la microflore pathogène dans la plaine d'Hennaya. Thèse de Magistère Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.pp.116.
- Sforza, R., et Sheppard, A. 2004.** La lutte biologique introduction, espèces envahissantes, une méthode de lutte respectueuse de l'environnement. Les savoirs partagés d'Agricolis Museum. Pp.2-5.

- Sharma N. et Tripathi A. (2006).** Fungitoxicity of *Citrus sinensis* L. essential oil on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiological and Biotechnology*, 22, 587-593.
- Singleton, V.L ; Rossi, J.A .(1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Smail O. & Kheddouci D., 2000:** Relations entre le degre d'infestation de differentes varietes fruitieres par *Ceratitis capitata* Wied, 1824 (Diptera ; Trypetidae) et les caracteristiques physico-chimiques des fruits dans differents vergers de la wilaya de Tizi-ouzou, These Ing. Uni. Tizi-Ouzou. 64p.
- Sofowara A., 1993.** Medicinal plants and traditional medecine in a frica. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria. P.289
- Stone, B.C. (1985).** Rutaceae. In : M.D. Dassanyake and F.R. Fosberg (eds.). A Revised Handbook of the Flora of ceylon, Volume V. Smithsonian Institution and the National Science Fondation, Washingto., D.C.
- Swarup , S., Feyter, R., Brlansky, R.H. Gabriel, D. (1991).** A pathogenicity locus from *Xanthomonas citri* enables strains from several pathovars of *X.campestris* to elicit cankerlike lesion on citrus .*phytopathology*, 81 : pp802-809.
- Tabti L. 2015 :** Comparaison des activités insecticide et antimicrobienne de *Thymus capitatus*(L.) Hoffm. & Link, *Tetraclinisarticulata* (Vahl.)Masters et *Daucus crinitus*Desf. contre les pathogènes de l'oranger *Citrus sinensis* dans la région de Tlemcen. Thèse de Doct. Ecologie et envir. Uni.Tlemcen, 144p.
- Tamesse, J. L., Messi, J., Silatsa-Soufo, E., Kambou, J., Tiago, A. B., Ndongo, A. Thamam RR., 1996** A Review of use and status of trees ans forests in Land Use systems in Somoa, Tango, Kiribati Tuvalu with recommendations for Future Action soiuth pacific Forestry developpement programme, Suva, Fiji.
- Teixeira.Duarte M.C., Mara Figueira G.et Sartoratto A.(2005).** Anticandida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 97.305-311
- Thomas, M.C., Happner, J.B., Woodruff, R.E., Weems, H.V., Steck, G.J. &Fasulo, T.R. (2001).** Mediterranean fruit fly, *Ceratitiscapitata* (Widemann) (Insecta :Diptera : Tephritiae). Florida Department of agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry ; and T.R. Fasulo, Entomology and Nematology Department, university of Florida, Gainesville, FL.

- Trease, E; et Evans, W.C .(1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). Journal of Medicine and scintific. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.
- Tucker,DPH., Wheaton, T.A &Muraro, R.P. (1994).** Citrus Tree Pruning Principales and Practices.Fact Sheet HS-144. Horticultural Sciences Department,
- Tzanakakis, M.E. & Koveos, D.S. (1986).**Inhibition of avarian maturation in the olive fruit fly under long photophase and an increase of temperature. Annals of the Entomological Society of America, 79. pp. 15-18.
- Van-Ee, S. (2005).** *La culture fruitière dans les zones tropicales.*Wageningen. variétés d'agrumes par *Ceratitis capitata* Wied.,1824 (Diptera ; Trypetidae) en fonction de l'exposition dans différents vergers de la région de Tizi-Ouzou.Mémoire d'Ingéniorat en écologie Animal. Université Moloud Mammeri de Tizi ouzou.
- Vayssiers J.F., Sinzogan A., et Bokonon-Granta A.(2008).** Les mouches des fruits du genre *Cératitis capitata* Diptera : Tephritidae en Afrique de l'Ouest ., IITA. Cirad. UPR Production fruitière, Montpellier., 4p.
- Vergoulas P., Mavrotas C., Varikou K.,Alexandrakis V., Prophetous D., Mickelas S., Kovaïos D., 2002.** *Control of olive fruit fly (Bactrocera oleae Gmel) by bait application using Spinosad a Naturalyte Insect Control Product. Proceedings of the 6th International Symposium*
- Vernière, C., Navaro, L. Bové, JM. (2003).** Statut actuel des pathogènes des agrumes dans le Bassin méditerranéen. CIRAD-FLHOR, TA 50/PS4, 34398 Montpellier cedex 5, France. A Volume 12: August 2005- January 2006
- Viuda Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J et Perez Alvorez J.(2008).** Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon L.*), mandarin (*Citrus reticulate*), grape fruit (*Citrus paradise L.*) and orange (*Citrus sinensis L.*), essential oils Food control 19,1130-1138.
- Walter A ; Sam C., 2002.** Fruits of Oceania (Trans, P. Ferrar From fruits D'ocianie). ACIAR Monograph 85. Australian center for international Agricultural Research, Camberra, Australia.
- Wawrzyniak A, Górnicka M, Hamułka J, Gajewska M, Drywie M, Pierzynowska J. 2006** Phenols exhibit extensive diversity in *structure* and are

characterized by one ... acid), coumarins, flavonoids, stilbenes, condensed and *hydrolysable tannins*, lignans ;25:444–453.

Weems H., 1981: Mediterranean fruit *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Trypetidae). *Pep. Agric. Cumer, Dir. Plant. Industry. Entomol. Circ. Florida* (230), 12p.

Wiedemann, C.R.W. (1829). *Munus rectoris in Acadamia Christiana Albertina aditurus Analecta entomologica ex Museo Regio Havniesi maxime congesta profert inconibusque illustrat.* 60p. kiel.

Wilmsen P.K; Spada D.S and Salvador M., 2005. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems.*J.Agric.Food Chem*, Vol.53, n°12, p.4757-4761.

Wong, T.T.Y., Mochizuki, N. et Nishimoto, J.I.(1984). Seasonal abundance of the Mediterranean and oriental fruit flies (Dip., Trypetidae) in the Kula area of Maui, Hawaii, *Environ. Entomol*, 13 : 140-145.

Worsham A.D, 1991. Allelopathic cover crops to reduce herbicide inputs. *Proceedings of Southern Weed Science Society* 44 : 58-69.

Vu Z.; Dahigren R. A., 2005. Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage.*J.Chem.Ecol.*26:21 19-2 140.

Zhiri A. (2006). Les huiles essentielle un pouvoir antimicrobien avéré *Nuta News. Science. Nutrition, Prévention et Santé.* Edité par la fondation pour le libre choix, 12,8.

Annexe 01 : milieux de culture

- PDA (Potato Dextrose Agar = gélose pomme de terre glucosé) :

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200g de pomme de terre. Les mettre dans 700 ml d'eau distillée et porter à ébullition, puis filtrer et compléter à 1 litre :

Glucose	20g
Agar	15g
Extrait de pomme de terre	

Annexe 02 : Préparation des réactifs:

1-Réactifs de Mayer:

Dissoudre 1.358 g de Hg C12 dans 60ml d'eau distillée;

Dissoudre 5g de KI dans 10ml d'eau distillée;

Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau distillée.

2-Réactifs de Wagner:

Dissoudre 1.2g d'iode I₂ dans 50ml d'eau distillée contenant 2.5g de iodure de potassium KI;

Chauffer pendant 5 minutes puis diluer jusqu'à 500ml d'eau distillée.

Annexe 03 : Préparation de l'étalon de dosages des polyphénols totaux :

A partir de la solution mère, nous avons préparé des dilutions de différentes concentrations :

15mg/l, 14mg/l, 13 mg/l, 12 mg/l, 11 mg/l, 10 mg/l, 9 mg/l, 8 mg/l, 7 mg/l, 6 mg/l, 5 mg/l, 4 mg/l, 3 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l.

- prendre 3ml de chaque concentration et ajouter 0,5ml du réactif de Folin Ciocalteu
- Laisser réagir pendant 3 minutes.
- Puis ajouter 2ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%.
- Mettre le mélange au Vortex et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure.
- Lire l'absorbance à 650nm.

- **Préparation de l'étalon de dosage des flavonoïdes :**

À partir d'une solution mère de rutine 1mg/ml, on prépare des dilutions de différentes concentrations :

0,9mg/ml, 0,8mg/ml, 0,7mg/ml, 0,6mg/ml, 0,5mg/ml, 0,4mg/ml, 0,3mg/ml, 0,2mg/ml, 0,1mg/ml.

On prend 2ml de chaque concentration et on y ajoute 2ml (AlCl₃) à 2%, puis on les mélange au Vortex.

Après incubation de 15mn, on lit l'absorbance à 430nm.

Annexe 04 : Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 28 niveaux différents de Dose AET P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose AET P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	519.467	27	19.2395	44.60	0.0000
Intra-groupes	7.33333	17	0.431373		
Total (Corr.)	526.8	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes. Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 44.6007, est un ratio de

Annexe 05 :

Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 18 niveaux différents de Dose nbut P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose nbut P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	371.278	17	21.8399	21.71	0.0000
Intra-groupes	27.1667	27	1.00617		
Total (Corr.)	398.444	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes.

Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 21.7059, est un ratio de l'estimation inter-groupes par rapport à l'estimation intra-groupes. Comme la valeur de la probabilité pour le test F est inférieure à 0.05, il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de

mortalité d'un niveau de Dose nbut P1 à l'autre au niveau de confiance de 95.0%. Pour déterminer quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres, sélectionner Tests des étendues multiples dans la liste des options pour les tableaux.

Annexe 06 :

Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 15 niveaux différents de Dose tanin P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose tanin P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	311.867	14	22.2762	11.66	0.0000
Intra-groupes	57.3333	30	1.91111		
Total (Corr.)	369.2	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes. Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 11.6561, est un ratio de l'estimation inter-groupes par rapport à l'estimation intra-groupes. Comme la

valeur de la probabilité pour le test F est inférieure à 0.05, il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de mortalité d'un niveau de Dose tanin P1 à l'autre au niveau de confiance de 95.0%. Pour déterminer quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres, sélectionner Tests des étendues multiples dans la liste des options pour les tableaux.

:

سمحت لنا الدراسة البيوايكولوجية لذبالة الفواكه *Ceratitis capitata* في منطقة مغنية عدة نتائج التي أتت معرفة مواسم و مناطق توزعها. الفطريات الضارة المتعلقة بها، سمحت بتعريف ثمانية أنواع فطرية. (*Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp* et *Monilia sp*).

بالمقابل دراسة قدرة البرتقال على مقاومة هذه القطريات بينت أن المكافحة تبدأ بإفراز مركبات فينولية تركيبية (Tanins) ثم تليها مكونات فينولية أخرى (Flavonoides). دراسة خلاصة قشرة البرتقال و الزيوت الطيارة الخاصة بها على العزلات الفطرية و يرقات الذبابة و (*Ceratitis capitata*) أكدت نتائج المقاومة الطبيعية نتائج المقاومة الطبيعية للبرتقال و أظهرت أن المركبات الفينولية و الزيوت الطيارة تلعب دور هام لمقاومة الفطريات و الحشرات الضارة.

الكلمات المفتاحية: *Citrus sinensis* الفواكه *Ceratitis capitata* ، مركبات فينولية، زيوت طيارة، alléopathie .

Résumé

L'étude bio-écologique de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* attaquant les oranges de la région de Maghnia, a permis d'obtenir un certain nombre de résultats qui ont servi à connaître la biologie et la répartition spatio-temporelle de ce ravageur dans notre région.

L'étude de la mycoflore pathogène qui lui est associée d'autre part, nous a permis d'identifier huit genres fongiques (*Alternaria sp.*, quatre genres de *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp* et *Monilia sp*).

Par ailleurs, l'étude du pouvoir allélopathique de l'oranger montre que la lutte commence par la sécrétion des tanins, qui sont des substances constitutives, puis se poursuit par les flavonoïdes qui sont inductibles et qui présentent des teneurs élevées chez l'oranger, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes.

L'étude de l'effet des extraits de l'écorce d'orange et de ses huiles essentielles sur les souches fongiques que nous avons isolées puis identifiées et sur les larves et l'adulte de *Ceratitis capitata* confirment nos résultats de la lutte naturelle de l'oranger qui montre que les composés phénoliques et les huiles essentielles jouent un rôle dans la défense de l'oranger contre les microorganismes.

L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure que l'oranger a un pouvoir allélopathique, lui permettant de se défendre contre ses agresseurs parasitologiques et microbiologiques en sécrétant des composés phénoliques en excès. Les extraits de zests d'oranges et leurs huiles essentielles testés ont une activité antifongique et une bonne activité insecticide sur tous les stades de la cératite, ils peuvent donc être utilisés en lutte biologique.

Mots-clés : *Citrus sinensis*; *Ceratitis capitata* ; composés phénoliques ; huile essentielle ; allélopathie.

Abstract:

The Bio-ecological study of the fruits' mosquito *Ceratitis capitata* in the region of Maghnia has given us to reach many results which allow the knowledge of seasons and regions of the distribution of this mosquito; the study of its harmful fungus allows us to define eight fungal types.

The study of the ability of orange to resist these funguses shows us that the combat starts with the secretion of Phenolic synthetic compounds (Tanins), and then comes other urging phenolic components.

The study of the oranges' extract and its specific essential oils on the fungal isolates and the mosquito's larvae and the mosquito its self confirms the results of the natural resistance of orange and shows that the phenolic compounds and the essential oils play a major role in the resistance of harmful funguses and insects.

Key words: *Citrus sinensis*; *Ceratitis capitata*, phenolic compounds, essential oils, allelopathy.

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE de TLEMCEM

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS**

**Département Ecologie et Environnement
Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels**

MEMOIRE DE MAGISTER

Option : Gestion intégrée des écosystèmes

Présenté par :

M^{elle} : Benazzouz Fatima zohra

Thème

**Etude de l'activité antiparasitaire et antimicrobienne des
extraits de zests d'oranges *Citrus sinensis* var. Washington
navel sur le ravageur *Ceratitidis capitata* et la mycoflore qui lui
est associée.**

Soutenu le :

Devant le Jury :

Président : Mr Benabadji N.	Professeur	Université de Tlemcen
Promoteur : Mme Gaouar Benyelles N.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice : Mme Bekhchi C.	MCA	Université de Tlemcen
Examineur : Mr Mesli L.	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2014-2015

Remerciements

Je remercie **DIEU** tout puissant, Maître des Cieux et de la Terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Tout d'abord je tiens surtout à adresser de chaleureux remerciements à **Mme GAOUAR-BENYELLES N.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour son attention de tout instant sur mes travaux, pour ses conseils avisés et son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de ce mémoire. Son énergie, sa gentillesse et sa confiance ont été des éléments moteurs pour moi. Merci pour tout, je ne trouve pas les mots pour exprimer mes sentiments réels et ma gratitude. Merci beaucoup madame.

J'adresse mes sincères remerciements à **Mr Benabadji N.**, Professeur à l'Université de Tlemcen pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie également **Mme Bekhchi C.**, Maître de Conférences à la Faculté S.N.V.S.T.U. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen de me faire l'honneur d'examiner mon mémoire de Magister.

Je tiens à remercier vivement **Mr Mesli L.**, Professeur à l'Université de Tlemcen, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes vifs remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce mémoire :

Mr Dib M.A., Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire pour effectuer l'hydrodistillation des huiles essentielles.

Mr BELYAGOUBI L., enseignant à l'Université de Tlemcen pour tout le temps qu'il a consacré pour m'aider à la réalisation de la partie microbiologique.

Mme Msaad M., Université de Sidi Thabet Tunis, Merci pour son accueil au sein de son laboratoire. (Centre National des Sciences Technologiques et Nucléaires de Sidi Thabet Tunisie). Un grand merci pour ses explications, son aide, ses conseils et sa gentillesse.

Mr Hamden H., et **Mr Ben Ali N.**, Merci pour leurs aides, leurs explications et leurs conseils.

Enfin, mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

- ❖ *la lumière de mes yeux, et le bonheur de ma vie mes très chers parents, qui sont la source de ma réussite, pour leurs sacrifices, leurs conseils et leurs encouragements.*
- ❖ *mes très chères sœurs*
- ❖ *mes très chers frères*
- ❖ *mon fiancé Miloud*
- ❖ *mes nièces Meriem et Amira.*
- ❖ *toute ma famille et tous mes ami (e)s.*

Fatima Zohra

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	Coupe d'une orange (on peut remarquer les petites poches d'huile essentielle).	4
Figure 2 :	Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression	5
Figure 3 :	photo d'un oranger	8
Figure 4 :	fleur de <i>Citrus sinensis</i> L.	9
Figure 5 :	feuilles et fruits de <i>Citrus sinensis</i> .	10
Figure 6 :	<i>Aspergillus sp.</i> sur citron	13
Figure 7 :	<i>Alternaria sp.</i> sur mandarine	14
Figure 8 :	<i>Geotricum candidum</i> sur orange	15
Figure 9 :	<i>P. italicum</i> sur citron	15
Figure 10 :	<i>P. digitatum</i> sur mandarine	15
Figure 11 :	<i>Phytophthora sp.</i> sur orange	17
Figure 12 :	<i>Phytophthora sp</i> sur orange	17
Figure 13 :	aire de distribution actuelle (décembre 2013) de <i>Ceratitis capitata</i> (Wied.).	20
Figure 14 :	œufs de <i>C. capitata</i>	22
Figure 15 :	adulte de la cératite (a1 et a 2 : femelle ; b1 et b2: mâle)	23
Figure 16 :	Cycle de développement de <i>C. capitata</i>	24
Figure 17 :	Schéma représentant le nombre de générations possibles en Algérie	25
Figure 18 :	Structure de tanin hydrolysable (gallotanin)	34
Figure 19 :	Structure de tanin condensé	35
Figure 20 :	Structure de flavonoïdes	35
Figure 21 :	Situation géographique de la wilaya de Tlemcen (P.D.A.U, 2006).	43
Figure 22 :	Valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles de la station de Maghnia	45
Figure 23 :	Répartition saisonnière des pluies (2004-2014)	46
Figure 24 :	Variations des températures mensuelles moyennes pour la période 2004-2014.	47
Figure 25 :	Diagramme ombrothermique de la période (2004-2014) de la station de Maghnia.	48
Figure 26 :	Climagramme d'Emberger pour notre région d'étude (2004-2014)	50
Figure 27 :	Matériel d'élevage au laboratoire	53
Figure 28 :	photo du prélèvement	55
Figure 29 :	Technique de microculture.	57
Figure 30 :	Plan de travail.	58
Figure 31 :	Dispositif d'hydrodistillation	64

Figure 32 :	Courbe d'étalonnage standard pour le dosage des polyphénols.	66
Figure 33 :	Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.	67
Figure 34 :	Principe de la chromatographie sur couche mince.	69
Figure 35 :	Le test des extraits phénoliques sur les adultes de <i>C.capitata</i> .	71
Figure 36 :	Le test de l'huile essentielle sur les adultes de <i>C.capitata</i> .	71
Figure 37 :	Moyennes de trous de ponte en fonction de l'orientation	74
Figure 38 :	Moyennes de trous de ponte en fonction de l'arbre.	75
Figure 39 :	Cinétique des trous de ponte selon la date	75
Figure 40 :	Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres	76
Figure 41 :	Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.	77
Figure 42 :	Cinétique des fruits chutés selon la date.	78
Figure 43 :	Courbe de régression relative à la relation des piqûres et des arbres avec $R^2=21$	79
Figure 44 :	Courbe de régression relative à la relation des piqûres et les fruits chutés	79
Figure 45 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria sp.</i>	81
Figure 46 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus sp</i>	81
Figure 47 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Monilia sp.</i>	81
Figure 48 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp1.</i>	82
Figure 49 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp2.</i>	82
Figures 50 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp3.</i>	82
Figures 51 :	Aspects macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp4.</i>	82
Figures 52 :	Aspects macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	83
Figure 53:	Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées	84
Figure 54:	Taux de la matière sèche de l'écorce d'orange	85
Figure 55:	Rendements massiques des flavonoïdes et des tanins.	86
Figure 56:	Teneurs en phénols totaux dans l'écorce saine et infectée des oranges.	87
Figure 57:	Teneurs en flavonoïdes des écorces saines et infectées des oranges.	87
Figure 58:	Teneurs en tanins des écorces saines et infectées des oranges.	88
Figure 59:	Photo de la plaque C.C.M pour l'identification des flavonoïdes chez l'orange.	89
Figure 60:	Pourcentages d'inhibition des extraits tanniques d'orange sur les différentes souches fongiques	99
Figure 61 :	Pourcentages d'inhibition des différentes souches fongiques par l'huile essentielle d'orange.	100
Figure 62 :	Effets de l'huile essentielle et des extraits tanniques et flavonoïques de l'oranger sur A (<i>Monilia sp</i>), B (<i>Penicillium sp1</i>), C (<i>Penicillium sp2</i>), D (<i>Alternaria sp</i>) et E (<i>Aspergillus sp</i>)	102

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 :	Origines des espèces d'agrumes	3
Tableau 02 :	Critères de la classification botanique chez les agrumes	6
Tableau 03 :	Dates d'apparition et de répartition de <i>Ceratitis capitata</i> dans le monde.	21
Tableau 04 :	Répartition des agrumes dans la Wilaya de Tlemcen.	42
Tableau 05 :	Données géographiques de la station météorologique	44
Tableau 06 :	Régime saisonnier des précipitations pour la période 2004-2014	45
Tableau 07 :	Températures moyennes mensuelles à la station de Maghnia de 2004 à 2014.	47
Tableau 08 :	Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés.	80
Tableau 09 :	Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées.	83
Tableau 10 :	Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'écorce d'orange.	85
Tableau 11 :	Résultats de C.C.M pour les extraits des flavonoïdes chez l'orange	89
Tableau 12 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase acétate d'éthyle des flavonoïdes après 72h.	90
Tableau 13 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase n-butanol après 72h.	91
Tableau 14 :	Taux de mortalité des adultes à différentes concentrations des tanins après 72h.	92
Tableau 15 :	Taux de mortalité des stades L1 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques	93
Tableau 16 :	Taux de mortalité des stades L2 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.	94
Tableau 17 :	Taux de mortalité des adultes de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle.	95
Tableau 18 :	Taux de mortalité des larves L1 de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.	96
Tableau 19 :	: taux de mortalité des larves L2 de <i>C. capitata</i> aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.	97
Tableau 20 :	Résultats de DL50 (μ l) pour chaque extrait.	98
Tableau 21 :	Effet des extraits tanniques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).	98
Tableau 22 :	Effet des extraits flavonoïques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition)	99
Tableau 23 :	Effets des huiles essentielles d'oranger sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).	100

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I: LES AGRUMES	
1. Origine géographique et diffusion des agrumes	3
2. Taxonomie	4
3. Principales variétés d'agrumes	5
4. Production des agrumes dans le monde	6
5. Production des agrumes en Algérie	7
6. Porte greffe chez les agrumes	7
7. Etude de la plante hôte	8
7.1. Morphologie	8
7.1.1. Racines	8
7.1.2. Tronc	8
7.1.3. Feuilles	9
7.1.4. Fleurs	9
7.1.5. Fruits	9
7.1.6. Graines	10
8. Ecologie et phénologie des agrumes	10
8.1. Ecologie	10
8.2. Phénologie	11
9. Principales maladies des agrumes	11
9.1. Désordres physiologiques	
9.2. Maladies bactériennes	12
9.3. Maladies virales	12
9.4. Maladies cryptogamiques	12
9.4.1. Moisissures des fruits	12
9.4.2. Pourrissement des racines et gommose	16
10. Principaux ravageurs	18
PARTIE II : PRESENTATION DU PHYTOPHAGE <i>CERATITIS CAPITATA</i>	19
1. Présentation de la mouche méditerranéenne	19
2. Taxonomie	19
3. Origine et aire de répartition	20
4. Principaux caractères morphologiques	22
4.1. Oeuf	22

SOMMAIRE

4.2. Larve	22
4.3. Pupa	23
4.4. Adulte	23
5. Cycle de développement	24
5.1. Ponte et incubation	24
5.2. Développement larvaire	24
6. Nombre de générations	25
7. Dégâts causés par la cératite	26
8. Lutte	26
8.1. Lutte chimique	26
8.2. Lutte biotechnologique	27
8.3. Lutte biologique	27
8.3.1. Lutte par les prédateurs	27
8.3.2. Lutte microbiologique	28
8.3.3. Lutte parasitologique	28

PARTIE III : POUVOIR ALLELOPATHIQUE DES CITRUS CONTRE LES AGRESSIONS PHYTOPATHOGENES

1. Généralités	29
2. Composés allélopathiques	31
2.1. Nature chimique	31
2.2. Mode d'action au niveau biochimique et cellulaire	31
2.2.1. Quinones	31
2.2.2. Terpènes	32
2.2.3. Phénols	32
3. Participation des composés phénoliques à la résistance des plantes aux parasites	33
4. Principaux composés phénoliques chez les agrumes	34
4.1. Tanins	34
4.1.1. Les tanins hydrolysables	34
4.1.2. Tanins condensés	35
4.2. Flavonoïdes	35
5. Huiles essentielles	36
5.1. Définition	36
5.2. Composition chimique des huiles essentielles	36
5.3. Effets physiologiques et physiques des huiles essentielles	37

SOMMAIRE

5.3.1. Effets physiologiques	37
5.3.2. Effets physiques	37
5.4. Action des huiles essentielles	37
5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	38
5.5.1. Distillation	38
5.5.2. Hydrodistillation	38
5.5.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	38
5.5.4. Hydrodiffusion	39
5.6. Activités biologiques des huiles essentielles	39
5.6.1. Activités antimicrobiennes	39
5.6.1.1. Activité antibactérienne	39
5.6.1.2. Activité antifongique	40
5.6.1.3. Activité antivirale	40
5.7. Activité liée à la composition chimique	41

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

PARTIE 1. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

1. Situation géographique de la wilaya de Tlemcen	42
2. Situation de la région de Maghnia	44
3. Climat	44
3.1. Précipitations et variations pluviométriques saisonnières	44
3.2. Les vents	46
3.3. Température	46
3.4. Synthèse bioclimatique	47

PARTIE II : ETUDE ENTOMOLOGIQUE

1. Matériel pour élevage	51
2. Méthodes	51
2.1 Echantillonnage des agrumes	51
2.2 Mise en élevage	52
2.3 Analyses statistiques des données	53
2.3.1. Analyse de variance	53
2.3.2. Corrélacion et régression	53

SOMMAIRE

PARTIE III : ETUDE MYCOLOGIQUE

1. Echantillonnage	55
1.2 Isolement et dénombrement de la flore fongique	55
a. Méthode d'Ulster (Larpent, 1990)	55
b. Purification	56
c. Identification des moisissures	56

Partie IV : Etude des composés phénoliques

1. Plan de travail	58
1.1 Détermination de la teneur en eau :(Audigie et <i>al.</i> , 1980)	59
1.2 Tests phytochimiques	59
1.3.Extractions sélectives	62
1.3.1.Extraction des tanins (Bruneton, 1999)	62
1.3.2.Extraction des flavonoïdes	62
1.3.3.Extraction des huiles essentielles	63
1.4. Dosage des composés phénoliques	64
1.4.1. Dosages des phénols totaux	64
1.4.2. Dosage des flavonoïdes	65
1.4.3.Dosage des tanins	66
1.5. Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) pour l'identification des composés phénoliques de l'orange	67
	69
1.6. Etude de l'activité insecticide	
1.7. Etude de l'activité antifongique	71

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS

1. Etude entomologique	72
1.1. Etude de l'infestation en fonction des trous de ponte	72
1.1.1. Effet de l'orientation	72
1.1.2. Effet de l'arbre	73
1.1.3. Effet de la date	74
1.2. Etude de l'infestation en fonction des fruits chutés	75
1.2.1. Effet de l'orientation	75

SOMMAIRE

1.2.2. Effet de l'arbre	75
1.2.3. Effet de la date	76
1.3. Relation entre les variables liées à l'infestation de l'oranger par <i>C. capitata</i>	77
1.4. Biologie des populations de <i>Ceratitidis capitata</i> à partir des élevages menés au laboratoire	78
2. Etude mycologique	
3. Etude phytochimique	83
3.1. Teneur en eau	83
3.2. Tests phytochimiques	83
3.3. Rendement massique	84
3.4. Dosage des phénols totaux	85
3.5. Dosage des flavonoïdes	86
3.6. Dosage des tanins	86
3.7. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)	87
3.8. Rendement des oranges en huiles essentielles	88
4. Activité insecticide des composés phénoliques extraits	88
4.1. Activité insecticide des flavonoïdes extraits à l'acétate d'éthyle (AET) vis-à-vis des adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	88
4.2. Activité insecticide des flavonoïdes extraits par le nbutanol (nbut) vis-à-vis des adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	89
4.3. Activité insecticide des tanins sur les adultes de <i>Ceratitidis capitata</i>	90
4.4. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L1 de <i>C. capitata</i>	91
4.5. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L2 de <i>Ceratitidis capitata</i>	93
4.6. Effet insecticide des huiles essentielles de l'oranger sur les adultes de la cératite	94
4.7. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L1	95
4.8. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L2	96
4.9. Concentrations létales 50 ou DL50	96
5. Activité antifongique	97
Discussion	101
1. Etude entomologique	101
.Effet orientation	102
.Effet de l'arbre	102
.Effet de la date d'observation	103

SOMMAIRE

.Cycle de développement	103
2. Etude mycologique	105
3. Etude phytochimique	106
4. Activité insecticide	109
5. Activité antifongique	111
Conclusion	111
Conclusion générale	112
Références bibliographiques	113
Annexes	

Introduction

L'arboriculture fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie. Ce grand pays, de par sa position géographique et ses diverses conditions pédoclimatiques, a en effet le privilège de mettre en culture plusieurs espèces fruitières et de produire des fruits frais tout au long de l'année.

De tous les insectes ravageurs menaçant l'arboriculture fruitière, la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Weideman, 1824) (Diptera : Tephritidae), est considérée comme l'une des espèces les plus nuisibles et surtout sur les agrumes et les pêchers dans les pays méditerranés.

Ceratitis capitata est un ravageur important en Afrique, qui s'est disséminé vers pratiquement tous les autres continents ; il est devenu sans aucun doute le ravageur le plus important de sa famille. Cette mouche est très polyphage et provoque des dégâts sur un grand nombre de cultures fruitières non apparentées.

Elle représente un des plus graves problèmes pour l'agriculture en général et l'agrumiculture en particulier. Les dégâts causés par la cératite constituent l'un des principaux obstacles à la production des fruits sains et leur exportation. Les dégâts annuels sont variables et peuvent atteindre 10 à 20% ou plus (**Féron et al., 1956**).

Elle transmet aussi des champignons provoquant la pourriture des fruits.

Parmi les pathogènes existants, certains peuvent avoir des conséquences graves et leur transmission par insectes et autres vecteurs rend leur contrôle difficile. Des maladies fongiques peuvent entraîner des pertes de récolte importantes ou les dépérissements des arbres.

Pour toutes ces raisons, nous avons jugé utile d'étudier les attaques du ravageur *Ceratitis capitata* et de la mycoflore pathogène qui lui est associée dans la région de Maghnia (Wilaya de Tlemcen), notamment sur l'oranger de la variété Washington navel.

Par ailleurs, des travaux effectués sur d'autres plantes ont montré que les végétaux agressés par des insectes sécrètent des composés phénoliques qui jouent un rôle prépondérant dans la défense contre les agressions phytopathogènes grâce à leur pouvoir allélopathique (**Macheix et al., 2005**).

Des mécanismes très importants sont mis en place par la plante lors de phénomènes de résistance vis-à-vis du stress abiotique (stress thermique, hydrique,...) ou stress biotique engendré par les pathogènes (**White et Elson-Harris, 1992**).

Introduction

Les composés secondaires des plantes sont donc des substances allélochimiques susceptibles d'agir comme des systèmes de défense constitutive directe, permettant aux plantes de réduire les dégâts occasionnés par leurs ennemis naturels (**Bouarab et al., 2004**).

De ce fait, les composés phénoliques ont une grande importance en écophysiologie et en relations plantes-environnement ; la résistance à certains parasites peut être associée à la présence de composés phénoliques (phytoalexines) (**Dietz, 2007**) ; par ce travail nous espérons vérifier si l'oranger utilise également ce moyen de résistance grâce à son pouvoir allélopathique, pour lutter contre les attaques parasitologiques et fongiques.

Notre mémoire est scindé en trois chapitres, après l'introduction générale, nous présentons une revue bibliographique qui englobe tout ce qui concerne les agrumes, leur taxonomie, les principales variétés et les ennemis qui peuvent les attaquer; les différents moyens de lutte naturelle y sont décrits, ainsi que les composés phénoliques et leur rôle dans la défense allélopathique de cet arbre ;

Au second chapitre, une présentation de la zone d'étude avec toutes ses caractéristiques bioclimatiques est exposée, en même temps que le matériel et les méthodes expérimentales ainsi que les analyses statistiques utilisées ;

Les résultats et leur discussion sont présentés dans le troisième chapitre qui se subdivise en trois parties :

- **Une étude entomologique** : concernant les attaques de *Ceratitis capitata* et leur répartition spatio-temporelle en considérant l'impact de la date, de l'orientation et de l'arbre échantillonné sur le degré d'infestation durant la période d'étude.
- **Une étude microbiologique** qui consiste à identifier la mycoflore de nos fruits ; nous avons testé l'activité antifongique et antiparasitaire de quelques extraits d'oranger et leur l'huile essentielle contre les souches que nous avons isolé pour savoir s'il existe une lutte naturelle de l'oranger.
- **une étude biochimique** pour identifier les différents composés phénoliques que comporte l'écorce des oranges saines et infectées, leur nature et leur concentration pour savoir s'il existe un pouvoir allélopathique de l'oranger contre ses agresseurs.

Enfin, une conclusion générale avec des perspectives seront exposés, permettant de récapituler les plus importants résultats de notre travail.

PARTIE I : LES AGRUMES

Les agrumes appartiennent à la famille des rutacées et correspondent aux espèces exploitées chez les genres *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus*. Dans certaines conditions écologiques, ils sont la cible de nombreux parasites (**Dongmo et al., 2002**).

Ces espèces fruitières sont cultivées dans l'ensemble des régions tempérées chaudes telles que les pays méditerranéens, tropicaux et subtropicaux. Ils sont originaires du sud-est asiatique et se caractérisent par des excroissances sur la tige, des feuilles, des fleurs blanches ou mauves et leurs fruits divisés en sections à peau spongieuse ou lisse et à pulpe juteuse.

Les agrumes sont cultivés principalement pour leurs fruits et pour leur valeur médicinale.

1. Origine géographique et diffusion des agrumes

Les agrumes sont originaires des régions tropicales et subtropicales de l'Inde, de la Chine méridionale, de l'Australie septentrionale et de la Nouvelle Calédonie. la culture des orangers et des pamplemoussiers en Chine remonte à 2400 avant J.C. (**Manner et al., 2005**). Les variétés chinoises d'agrumes se sont diffusées dans le monde entier par différents réseaux. Vers le premier siècle avant J.C., le citron, à l'origine cultivé en Chine, fut apporté en Iran puis dans les pays méditerranéens. D'autres variétés comme les oranges douces ont été exportées à l'étranger par les routes commerciales maritimes et terrestres.

Tableau 01 : Origines des espèces d'agrumes (**Thaman et Whister, 1996**)

Espèce (nom scientifique)	Nom commun	Pays natal
<i>Citrus aurantifolia</i>	Citronnier	La Malaisie
<i>Citrus aurantium</i>	Orange amère	L'Indochine et le Sud de la chine
<i>Citrus grandis</i>	Pamplemoussier	La Malaisie
<i>Citrus hystrix</i>	Citronnier rugueux	La Malaisie
<i>Citrus limon</i>	Citronnier	Le Sud- Est de l'Asie
<i>Citrus medica</i>	Cédratier	L'Inde
<i>Citrus mitis</i>	Calamondin	La Chine
<i>Citrus paradisi</i>	Pomelo	L'Ouest de l'Inde
<i>Citrus reticulata</i>	Mandarinier	Le Sud-Est de l'Asie
<i>Citrus sinensis</i>	Orange douce	L'Indochine et le Sud de la Chine

2. Taxonomie

D'après **Guignard (2001)**, la position systématique des agrumes se présente comme suit:

Embranchement : Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicotylédones.

Sous classe : Rosidées.

Ordre : Rutales.

Famille : Rutaceae.

Genre : *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus*.

Le genre *Citrus* est subdivisé en sous genre *C. hystrix*, *C. papeda*, et *C. macroptera*. La différence entre eux se traduit par la présence de gouttelettes d'huile amère dans les vésicules des pulpes de *papeda* (**Stone, 1985**).

Elles s'identifient par leur appareil sécréteur constitué de poches sécrétrices d'un type particulier dites schizolysigènes (Figures 1 et 2) (leur formation résulte à la fois d'un écartement et de la multiplication des cellules, délimitant la cavité à l'origine de la poche, et d'une lyse des cellules les plus internes de celle-ci) ; ils ne sont rencontrés dans aucune autre famille (**Guignard, 2001**).



Figure 1 : Coupe d'une orange (on peut remarquer les petites poches d'huile essentielle).

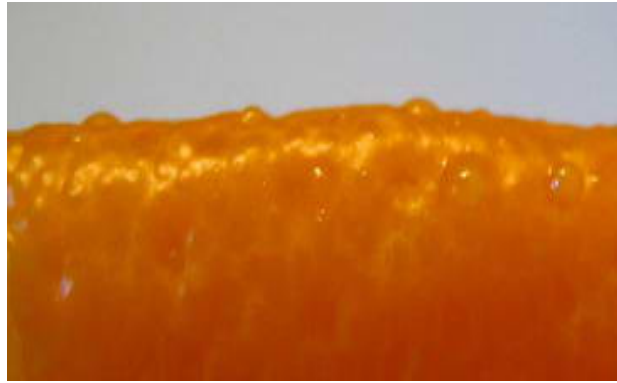


Figure 2 : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression.

3. Les principales variétés d'agrumes :

Les agrumes sont généralement des arbres ou arbustes de taille moyenne ; la plupart des grandes variétés sont dues à la sélection d'individus au sein de populations de semis ou greffes, chez lesquels sont relevés naturellement des caractères nouveaux.

Les modifications de leur constitution génétique sont dues principalement :

- à la ségrégation et à la recombinaison des caractères chez les plantes issues d'embryon gamétiques de variétés hétérozygotes ;
- à l'hybridation naturelle inter-variétés, interspécifique ou inter génétique ;
- aux mutations.

En outre, **Dosba (2002)** affirme que toute nouvelle variété doit subir un examen DHS: distinction-homogénéité-stabilité, qui a pour but de la distinguer des autres variétés (Tab. 02), connues par leurs propres performances.

Tableau 02: Critères de la classification botanique chez les agrumes (Manner et al., 2005).

Espèce (nom scientifique)	Nom commun	Taille d'épines
<i>Citrus aurantifolia</i> (Cristm)	Citronnier	Arbuste/petit arbre de 4m de hauteur, épineux.
<i>Citrus aurantium</i> L.	Orange amère.	Arbre de 10m de hauteur avec de courtes épines.
<i>Citrus grandis</i> L	Pamplemoussier	Arbre de 12 m de hauteur épineux.
<i>Citrus hystrix</i> DC	Citronnier rugueux	Arbre de 5 m de hauteur avec des courtes épines.
<i>Citrus limon</i> L	Citronnier	Arbre de 6 m de hauteur avec des épines dures.
<i>Citrus macroptera</i>	Montrouzier	Arbre de 5 m de hauteur avec des épines droites.
<i>Citrus medica</i> L	Cédratier	Arbuste de 3 m de hauteur.
<i>Citrus mitis</i> Blanco	Calamondin	Arbre de 12 m de hauteur, épineux.
<i>Citrus paradisi</i> Macf.	Pomelo	Arbre de 15 m de hauteur.
<i>Citrus reticulata</i> Blanco.	Mandarinier	Arbre de 9 m de hauteur, généralement épineux.
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck	Orange douce.	Arbre de 12 m de hauteur, les tiges souvent épineuses.

4. Production des agrumes dans le monde :

Actuellement, la production mondiale d'agrumes est de l'ordre de 122 millions de tonnes. C'est la deuxième production fruitière derrière le groupe des bananes et plantains (125 millions de tonnes), loin devant la pomme (70 millions de tonnes). Les productions d'agrumes sont réparties en 4 groupes par la FAO. Il s'agit du groupe des oranges, de celui des pamplemousses et pomélos, du groupe des citrons et limes et de celui des petits agrumes qui regroupe les autres espèces commercialisées. Les oranges constituent la majeure partie de la production des agrumes (58%) suivi des citrons avec plus de 10%. Le reste de la production est partagé entre les pamplemousses, les pomélos et les autres petits agrumes (mandarines,

tangelos, tangors). Dans le groupe des oranges, les cinq plus grands producteurs mondiaux en 2009 sont le Brésil, les Etats-Unis, l'Inde, la Chine et le Mexique (**Loeillet, 2010**).

5. Production des agrumes en Algérie

Des statistiques officielles estiment que l'agrumiculture est l'une des principales activités de l'arboriculture algérienne, elle représente 9,8% des surfaces arboricoles, occupant ainsi la quatrième place après l'olivier (35,9%), les espèces à noyaux (24,9%) et le palmier dattier (21,7%).

La région de la Mitidja, classée première dans le pays pour l'arboriculture, représente 37% de la production totale des agrumes en Algérie (**Sahraoui, 2007**).

A Tlemcen, le potentiel agrumicole est concentré essentiellement au niveau de la vallée de la Tafna (Remchi), Isser, dans la plaine de Hennaya, Chetouane et Maghnia (**DSA, 2014**).

6. Porte greffe chez les agrumes

L'utilisation des porte-greffes est revenue en agrumiculture moderne. Le porte-greffe classiquement utilisé jusque dans les années 50 dans les pays agrumicoles était le bigaradier ou oranger amer « *Citrus aurantium* », cependant, bien que le bigaradier soit en tant que tel tolérant à la tristeza ; maladie virale causant un flétrissement puis le dessèchement de la frondaison, il présente l'inconvénient lorsqu'il est utilisé comme porte-greffe, de ne pas conférer de résistance vis-à-vis de cette maladie à l'association greffon/porte-greffe (**INRA, 2002 ; Jacquemond et al., 2002**).

De nouveaux porte-greffes doivent donc être recherchés et comporter des tolérances ou des résistances à certains facteurs biologiques et pédoclimatiques. Ils doivent également apporter une amélioration conséquente sur les qualités suivantes :

- mise à fruit rapide, allongement de l'époque de maturité, productivité (augmentation du rendement et du calibre des fruits) ;
- qualités organoleptiques et souplesse des techniques culturales du verger (taille, irrigation, fumure, durée des travaux). Une bonne résistance à la gommose ;
- association greffon/porte-greffe tolérant à la tristéza ;
- adaptation à une large gamme de type de sols ;
- Multiplication et élevage facile en pépinière.

7. Etude de la plante hôte :

Pour notre étude, nous présentons l'espèce *Citrus sinensis* Osbeck (orange douce) qui fait l'objet de notre étude. La variété Washington navel est originaire de Bahia au Brésil «introduite à Washington en 1870». Ses fruits sont de 7 à 10 cm de diamètre, avec une écorce orange foncée aromatique, elle est sucrée et sans pépins. Ses fleurs blanches sont très parfumées ; la maturité des fruits a lieu en fin novembre-décembre.

7.1. Morphologie :

7.1.1. Racines :

Chez les agrumes, le système racinaire occupe plus de 70% de la taille de l'arbre. Les racines ont un pivot qui peut dépasser de 2 m au-dessous de la surface. Ces racines fibreuses se prolongent généralement bien au-delà de la canopée (écran formée par la partie supérieure de la végétation du verger) (Walter *et al.*, 2002).

7.1.2. Tronc :

Praloran (1971) signale que les agrumes présentent habituellement un tronc presque cylindrique et parfois un aspect de colonnes entre elles.



Figure 3 : photo d'un oranger

7.1.3. Feuilles :

Les feuilles sont simples ou composées, sans stipule, éparses ou opposées. Un de leurs caractères communs est la présence de glandes oléifères qui apparaissent par transparence comme des points translucides. Toutes les parties de la plante possèdent en outre des tissus sécrétant des huiles essentielles, à odeurs aromatiques.

7.1.4. Fleurs:

Les fleurs généralement régulières et hermaphrodites, sont formées par 4 ou 5 pétales (blanches), généralement libres, les carpelles sont soudées en un gynécée à ovaire pluriloculaire supérieur, parfois inférieur (**Fig .4**).



Figure 4 : fleur de *Citrus sinensis* L.

7.1.5. Fruits :

Les fruits sont sphéroïdaux ou ovales (**Fig. 5**), en les sectionnant on peut observer :

- Un épicarpe : rugueux, robuste, jaune qui entoure et protège le reste du fruit. Cet épicarpe est riche en glandes lysogènes qui contiennent une huile aromatique essentielle volatile, d'une saveur citrique, composées de phéllandrène, limonène...
- Un mésocarpe : parenchymateux, blanc, consistant, qui est relié étroitement à l'épicarpe, formant la peau ou l'écorce. Le mésocarpe contient quelques glycosides, comme la linranine et la citrine et les flavonoïdes qui déterminent la vitamine P, le glucose et quelques acides organiques tels que l'acide citrique.

- Un endocarpe : charnu est divisé en 7 à 14 segments, séparés par des septas minces « cloisons des segments », chaque segment contient des pulpes « vésicules à jus » qui contiennent un jus acide et parfois sucré (INRA, 2005).



Figure 5 : feuilles et fruits de *Citrus sinensis*.

7.1.6. Graines :

Elles sont blanches à verdâtres, aplaties et angulaires. Elles sont généralement polyembryonnées, signifiant que plusieurs embryons peuvent germer à partir d'un seul ovule fécondé. Les embryons sont zygotiques ou nucellaires (qui a rapport au nucelle). Les embryons zygotiques sont issus de la pollinisation de l'ovaire, c'est-à-dire de la production sexuée, donc leurs qualités horticoles ne sont pas toujours semblables avec celles de l'arbre parent, tandis que les embryons nucellaires sont complètement issus de la plante mère et présentent des caractéristiques similaires avec celles de l'arbre parent.

Les graines ont une importance majeure pour la détermination et la classification de la variété (Manner *et al.*, 2005).

8. Ecologie et phénologie des agrumes :

8.1. Ecologie

- Les agrumes présentent une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. La culture des agrumes est possible partout où la température moyenne de l'année est supérieure à 13°C et inférieure à 39°C. Les agrumes préfèrent les

climats maritimes des zones subtropicales. En terme de besoins en eau, 120 mm par mois, soit 1200 à 1500 mm par an, représentent une quantité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes nécessite une irrigation (**Vernière et al., 2003**). La lumière a une action très remarquée sur la qualité et la coloration des fruits. Les arbres fruitiers sont plus exigeants sur les caractéristiques physiques du sol et non sur les caractéristiques chimiques qui peuvent être corrigées par des apports d'engrais et d'amendements. Les sols doivent être profonds et de préférence légers (sablo-argileux ou argilo-sableux), bien drainés. Les agrumes redoutent les eaux salines (au-dessus de 0,5%). Le pH idéal est situé entre 5,5 et 7,5 (**Walali Loudyi et al., 2003 ; Van Ee, 2005**). C'est à cet effet que le choix du porte-greffe est un des facteurs essentiels de réussite car il peut conférer à la plante une tolérance à des maladies et à des contraintes abiotiques (salinité, pH, froid, sécheresse, calcaire...). L'optimum d'altitude pour un bon développement des agrumes se situe entre 1000 et 1300 m car ces derniers ne doivent pas être trop exposés aux vents.

Loussert (1989) signale qu'au-dessous de 800 m, les fruits manquent de saveur. La peau des oranges reste verte, les cloisons deviennent plus épaisses.

8.2. Phénologie

Le développement de la frondaison des agrumes se fait sous forme de flux végétatif ou poussée foliaire (flush). Ces flux végétatifs succèdent à des périodes d'arrêt végétatif. Ce phénomène s'observe même en climat tropical humide où les conditions permettent une activité végétative continue (**Praloran, 1971**). Il existe généralement trois flux végétatifs par an. Ils commencent avec le début des pluies. Le premier flux, qui est de loin le plus important (longueur et nombre de rameaux émis), débute en mars avec le retour des pluies. Le second se fait au mois d'août, il est également déclenché par le retour des pluies. Le dernier survient en octobre.

9. Principales maladies des agrumes :

9.1. Désordres physiologiques

- **Les fentes des fruits** : observées chez les fruits à peau mince tels que les mandarines, provoquées par le climat, le manque d'irrigation et de fertilisation (**Tucker et al., 1994**).
- **Le pourrissement des racines** : causé par l'irrigation excessive des arbres qui résulte du manque d'oxygène dans les racines (**Manner et al., 2005**).

- **La carence en minéraux** : la pluie et l'irrigation excessives causent cette carence, ainsi que l'utilisation inappropriée des engrais (**Vernière et al., 2003**).

9.2. Maladies bactériennes :

- **La galle** : l'infection provoque une petite bosse sur un côté de la feuille et une dépression sur l'autre côté ; ensuite des pustules brunes vont se former sur la peau du fruit devenant subéreuses pendant leur développement, causées par *Elsinoe fawcetti*.
- **Les tâches noires** : infectés par *Guignardia citricarpa* qui touche les feuilles et les fruits, les symptômes de cette maladie ne sont pas observés à l'œil nu et les fruits deviennent non commerciabiles (**Manner et al., 2005**).
- **Citrus canker (le chancre)** : les symptômes de cette maladie se traduisent par des fentes sur les jeunes feuilles et les fruits provoquées par la bactérie *Xanthomonas axonopodis Citri* (**Swarup et al., 1991**).
- **Citrus greening** : provoqué par une bactérie appartenant aux *Liberobacter* qui se développe dans l'écorce, les feuilles et les nervures des arbres ; le fruit reste de couleur verte d'où le nom « greening ».

9.3. Maladies virales :

- **Tristeza** : le virus de la *Tristeza* est l'un des agents pathogènes les plus virulents des agrumes qui provoque une croissance retardé, des tiges trouées, des feuilles abimées et des fruits jaunes avec une taille réduite (**Manzanero, 2004**).

9.4. Maladies cryptogamiques

Les agrumes sont exposés à une large gamme de maladies cryptogamiques qui peuvent affecter les fruits :

9.4.1. Moisissures des fruits :

En dehors des pourritures brunes ou noires des fruits (*Colletotrichum*, *Ploespora* et *Alternaria*), leur importance économique n'est pas très grande, car les dégâts sont limités aux plantations situées en terrains argileux et humides.

➤ *Aspergillus sp.*

Les pourritures à *Aspergillus sp.* peuvent toucher toutes les variétés d'agrumes ; elles se développent préférentiellement en entrepôt lorsque les températures sont supérieures à 15°C. L'espèce *Aspergillus niger*, la plus fréquente, provoque une pourriture molle épidermique et est accompagnée d'une odeur caractéristique de fermentation. Initialement de couleur claire, elle se couvre ensuite d'amas de spores noires (**Fig.6**).

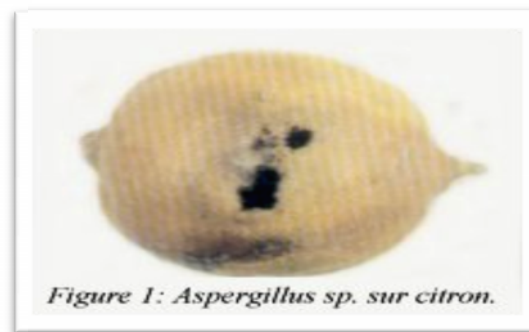


Figure 6 : *Aspergillus sp.* sur citron (Anonyme, 2000)

➤ *Alternaria sp.*

Les spores d'*Alternaria sp.* sont présentes toute l'année dans les vergers ; on les retrouve fréquemment dans les entrepôts. C'est un pathogène des blessures (grattage d'épiderme, plaie de coupe du pédoncule...), mais il pénètre surtout dans les fruits par les ouvertures naturelles (ombilic, cicatrice stylaire, craquelures de base du pédoncule...).

Sur l'épiderme il provoque une pourriture noire, molle, déprimée et entourée d'une bordure brunâtre (**Fig.7**) qui se développe en entrepôt même à des températures basses.

Dans le fruit, il colonise l'axe central et les quartiers ; les tissus noircissent. Cette pourriture interne se développe au verger et en entrepôt ; elle est indécélable à la cueillette. Les oranges Navel, les mandarines et les citrons sont les variétés les plus souvent atteintes. Les fruits, même faiblement contaminés, sont impropres à la consommation et à la fabrication de jus (**Moreau, 1974**).

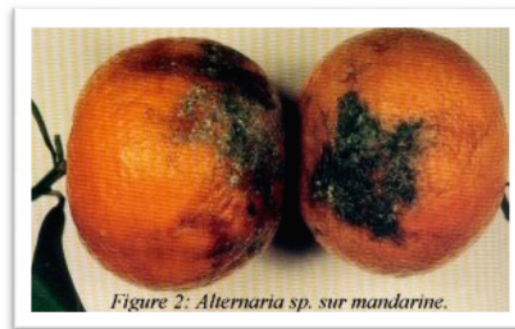


Figure 7 : *Alternaria* sp. sur mandarine (Mazih *et al.*, 2007).

➤ ***Cladosporium herbarum***

Ce pathogène est devenu fréquent sur de nombreuses variétés d'agrumes, en Espagne notamment. Il est présent sur différents débris végétaux en décomposition dans les vergers, et contamine les fruits pendant la cueillette.

Son action est similaire à celle d'*Alternaria* : il colonise les blessures de l'épiderme, la zone stylaire, l'ombilic des variétés Navel et la base des pédoncules. Sur la peau, il provoque une nécrose brunâtre souple qui se recouvre progressivement d'un mycélium gris-vert. Dans la zone stylaire, il reste superficiel mais les attaques pédonculaires précoces envahissent ensuite l'axe central.

➤ ***Geotricum candidum***

Ce champignon induit l'une des plus importantes et des plus nauséabondes pourritures des agrumes (pourriture amère). Elle s'observe sur toutes les variétés, mais plus fréquemment sur les groupes des citrons et des pomelos. C'est un champignon du sol qui contamine les fruits tombés à terre ou en contact avec des particules de terre souillant les caisses de récolte, lors des périodes pluvieuses.

Les parties atteintes sont rapidement molles, aqueuses et de couleur claire (**Fig.8**). L'épiderme, les cloisons et les vésicules à jus sont entièrement dégradés, et le fruit se transforme en une bouillie coulante, sale, d'odeur indésirable mais attractive pour les mouches du vinaigre (drosophiles). La contamination s'étend de fruit en fruit, au cours du stockage. (Mazih *et al.*, 2007).

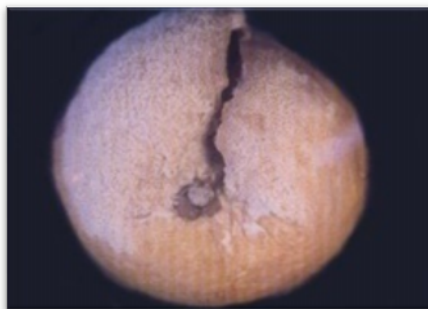


Figure 8 : *Geotricum candidum* sur orange (Mazih *et al.*, 2007)

➤ ***Penicillium digitatum* (pourriture verte) et *Penicillium italicum* (pourriture bleue)**

Ces deux *Penicillium* sont responsables de plus de 80 % des pourritures des agrumes ; toutes les espèces et variétés y sont sensibles. Ces champignons existent dans le monde entier. Ils sont présents en permanence et tout au long de la chaîne, depuis le verger jusqu'aux réfrigérateurs domestiques, en passant par les stations d'emballage, les véhicules de transports, les entrepôts, les magasins de demi-gros et les détails.

Ces deux espèces sont systématiquement associées, mais leurs biologies diffèrent par leurs modes d'infection et par les symptômes qu'elles provoquent (Mazih *et al.*, 2007).

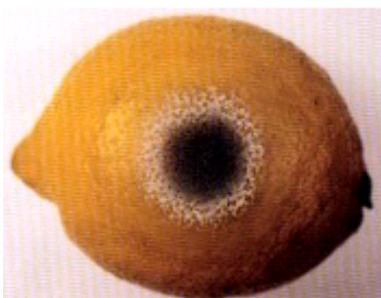


Figure 9 : *P. italicum* sur citron **Figure 10 :** *P. digitatum* sur mandarine (Mazih *et al.*, 2007)

Penicillium italicum est responsable de " la pourriture bleue "(Fig.9) des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores. C'est un parasite des épidermes intacts, plus redoutable de ce fait que *P. digitatum*. Ses spores sont présentes tout au long de la chaîne, de l'emballage à la consommation. L'épiderme atteint s'éclaircit, devient mou, puis un duvet mycélien blanc apparaît, qui se couvre rapidement de spores bleues. La chair est simultanément contaminée et le fruit, même partiellement atteint, devient inconsommable.

Les spores sont facilement transportées d'un fruit à l'autre, et la pourriture se propage aussi directement par contact. Aux températures basses d'entrepôt, son activité est supérieure à celle de *P. digitatum*. Les deux espèces peuvent cohabiter sur un même fruit, *P. italicum* venant parfois se surimposer à *P. digitatum*, mais jamais l'inverse.

Penicillium digitatum est responsable de " la pourriture verte "(**Fig.10**) des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores qui, en fin d'évolution, couvrent la totalité des fruits atteints. C'est strictement un parasite de blessures, ne pouvant pénétrer les épidermes intacts. Les possibilités de contamination au verger existent, mais l'essentiel des infections survient à la récolte, à l'emballage et dans les étapes suivantes de la commercialisation et de la consommation.

Au début, les zones atteintes de l'épiderme s'éclaircissent légèrement, deviennent molles, puis il se développe un fin mycélium blanc vif, à accroissement régulier et circulaire, dont le centre se couvre de spores vertes.

En fin d'évolution, les spores vertes recouvrent la totalité du fruit ; l'épiderme, flavedo et albédo, et la pulpe sont entièrement envahis. Dès le début de l'infection, le fruit a une saveur indésirable.

➤ *Trichoderma viride*

C'est un agent fréquent et important des agrumes entreposés. Il colonise de préférence les blessures profondes de l'épiderme. Il induit, autour du point de pénétration, une large zone brune, souple au toucher, qui se couvre progressivement d'un mycélium blanc, ponctué ensuite de petits amas de spores vert émeraude plus au moins foncés.

L'odeur des fruits atteints rappelle celle de la noix de coco. Présent en permanence dans les sols de vergers, il contamine les fruits en contact avec des particules de terre au moment de la récolte.

9.4.2. Pourrissement des racines et gommose :

Dû à (*Phytophthora citrophthora* ; *P. parasitica* ; *P. palmivora*). Le champignon *Phytophthora* provoque la pourriture des racines qui empêche l'absorption de l'eau et des minéraux. Ce

champignon peut affecter aussi l'écorce et le cambium qui commencent à sécréter une sorte de gomme claire, cette maladie est appelée « gommose » (**Christien *et al.*, 2002**).

Christien *et al.* (2002) ajoutent que les maladies fongiques (gommose...) peuvent entraîner des pertes de récolte importantes ainsi que le dépérissement de l'arbre.

➤ ***Phytophthora sp.***

N'importe quelle espèce du genre *Phytophthora* inféodée aux agrumes, peut occasionner ce qu'on appelle communément "la pourriture brune à *Phytophthora*".

En principe, les fruits de toutes les variétés peuvent être infectés, mais il existe quelques légères différences de sensibilité. Ainsi les oranges se révèlent être plus souvent atteintes que les citrons ou les mandarines.

Toutes les espèces de *Phytophthora* provoquent les mêmes symptômes. Ils s'expriment au début par une décoloration ponctuelle de la peau, vert clair sur les citrons non mûrs, brun clair sur les oranges à maturité. Ensuite la zone nécrosée s'étend et se colore de différentes teintes, plus ou moins foncées de brun (**Fig. 11 et 12**), selon les fruits. En entrepôt, un fin feutrage mycélien blanc apparaît dans les zones brunes atteintes.

Au verger, les fruits, surtout ceux situés sur les branches basses, sont infectés par les éclaboussures de pluie ou par les irrigations sous frondaison entraînant les spores.

Au conditionnement, les eaux de lavage sont souvent contaminées. En entrepôt la pourriture s'étend de fruit en fruit par contact. (**Chouibani *et al.*, 1997**).

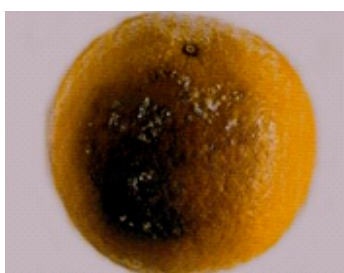


Figure 11 :*Phytophthora sp.* sur orange **Figure 12:** *Phytophthora sp* sur orange

(**Chouibani *et al.*, 1997**)

- **Les tâches graisseuses** : cette maladie touche les régions chaudes et humides, elle est causée par le champignon *Mycosphaerella citri* responsable des fentes brun- noirâtres au niveau de la partie antérieure des feuilles et d'autres très petites sur la peau du fruit.

10. Principaux ravageurs :

Les principaux ravageurs des agrumes sont les mouches de fruits (*Diptera, Tephritidae*), les thrips (*Scirtothrips* spp.), les cochenilles (*Aonidiella* spp., *Unaspis* spp., ...), les pucerons (*Aphisgossypii* et *Toxoptera citricida*), les aleurodes ou mouches blanches et les psylles (*Diaphorinacitri, Tryzaerytrae*). Ils causent divers dégâts sur les plantes. Certains se nourrissent aux dépens de la plante entraînant des déformations des feuilles et fruits (pucerons, cochenilles, psylles) ; d'autres sécrètent des substances toxiques pour la plante pouvant attirer des fourmis et provoquer le développement des fumagines (**Rey et al., 1986; Loussert, 1989**). Ce sont également des vecteurs de maladies à virus comme la tristezza (*Citrus Tristeza Cloterovirus*) transmis par les pucerons. Le greening véhiculé par les psylles est causé par une bactérie des espèces *Liberibacter africanum* et *L. asiaticum*. (**Aubert, 1988,1992 ; Rey et al., 1986 ; Mariau, 1999 ; Tamesse et al., 2002**).

PARTIE II : PRESENTATION DU PHYTOPHAGE***CERATITIS CAPITATA*****1. Présentation de la mouche méditerranéenne :**

La mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Wiedemann), généralement appelée Medfly en anglais, est l'un des phytoparasites les plus destructifs au monde, qui touche les vergers de fruits (Thomas et al., 2001). Elle constitue l'un des principaux ravageurs d'importance économique pour les diverses familles botaniques et les cultures fruitières (Duyck, 2005).

Elle a été découverte par Wiedemann en 1824 et considérée comme parasite des agrumes en 1829 (Wiedemann, 1829).

2. Taxonomie :

Selon Hendel (1927), Seguy (1934), Constantino (1950) et Duyck et al. (2005), *Ceratitis capitata* est positionnée comme suit dans la systématique :

Embranchement : Arthropoda ;

Classe : Insecta ;

Ordre : Diptera ;

Sous ordre : Brachycera ;

Division : Cyclorrhapha ;

Groupe : Schizophora ;

Super famille : Trypetidea ;

Famille : Tephritidae ;

Genre : *Ceratitis* ;

Espèce : *Ceratitis capitata*.

3. Origine et aire de répartition :

La mouche méditerranéenne des fruits est le plus important ravageur des fruits dans le monde entier (**Boudjlida et Soltani, 2011**). C'est une espèce très polyphage qui s'est établie dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales.

Des études récentes sur ses plantes hôtes et parasitoïdes, ainsi que l'analyse des microsattellites ont permis de confirmer qu'elle serait originaire de l'Afrique du Sud-Est (**Bonizzoni et al., 2000 ; De Meyer et al., 2004**).

La cératite est une espèce cosmopolite. **Cayol et al. (2002)** ont rapporté qu'elle a réussi à se disperser à travers les cinq continents en moins de 150 ans (**Figure 13, Tableau 03**).

Cette large dispersion est due à la rapidité des transports ainsi qu'à l'augmentation des échanges internationaux des produits agricoles, ainsi qu'à sa grande capacité d'adaptation aux différents types de climats grâce à sa variabilité génétique.

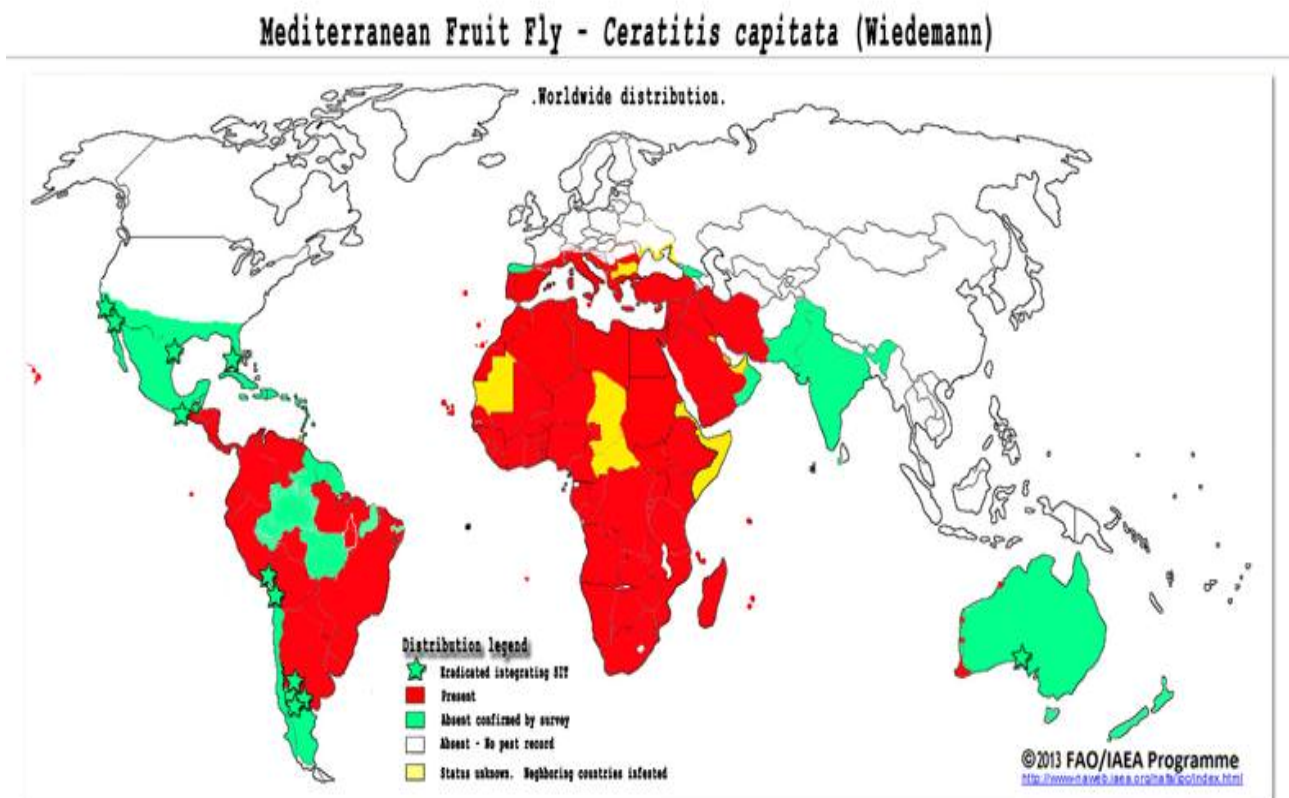


Figure 13 : aire de distribution actuelle (décembre 2013) de *Ceratitis capitata* (Wied.).
(F.A.O. 2013)

Tableau 03 : Dates d'apparition et de répartition de *Ceratitis capitata* dans le monde (Harris, 1984).

Contrées ou Continents	Pays	Année d'apparition
Afrique	Algérie	1858
	Tunisie	1885
	Afrique du Sud	1889
	Egypte	1904
Europe	Espagne	1842
	Italie	1863
	Sicile	1878
	France	1900
	Turquie	1904
Proche Orient	Liban	1904
	Palestine	1904
Pacifique	Australie	1898
	Tasmanie	1900
Amérique du Sud	Brésil	1901
	Argentine	1905
	Paraguay	1955
	Pérou	1956
	Chili	1963
Amérique centrale	Costa Rica	1955
	Nicaragua	1961
	Panama	1963
	Salvador	1975
	Guatemala	1975
	Equateur	1976
	Mexique	1977
Amérique du Nord	Hawaii	1910
	Floride	1929
	Texas	1966
	Californie	1975

4. Principaux caractères morphologiques :

4.1. Oeuf

Les œufs de la cératite sont blancs, allongés et légèrement arqués (**Fig. 14**) ; leur longueur atteint 1mm et leur diamètre est de 0,20 a 0,25 mm (**Nunez, 1987 ; Elaini, 2003**). Ils sont lisses et groupés lors de la ponte sous l'épiderme des fruits à une profondeur de 2 à 5 mm (**Filippi, 2003**).



Figure 14 : œufs de *C. capitata* (**Khimoud et Louni , 2008**)

4.2. Larve

La larve du premier stade est transparente et mesure 1mm. A ce stade, le squelette céphalopharyngien n'est pas mélanisé.

Au deuxième stade, les individus deviennent partiellement transparents et présentent la couleur de l'aliment ingéré. Leur taille est variable et la base des crochets buccaux est mélanisée.

Lorsque le développement est achevé, la larve atteint 7 à 9mm. Ceci dépend de la quantité et de la qualité de la nourriture ingérée ; à ce stade, les crochets buccaux sont totalement pigmentés. Les nutriments dont les larves se nourrissent sont les glucides, les protéines et l'eau ; ils sont tirés du milieu dans lequel elles se développent, c'est-à-dire la pulpe du fruit (**Duyck, 2005**).

Le dernier stade se distingue, aussi des autres, par son comportement. La larve se livre à une série de petits sauts qu'elle exécute et quitte ainsi le fruit.

4.3. Pupa

Elle a la forme d'un petit tonnelet lisse, résistant et mesurant 4 à 4,5 mm de longueur et 2 mm de diamètre (Orts et Giraud, 2006). La couleur est claire pour les jeunes pupes et brune foncée pour les pupes âgées.

4.4. Adulte

C'est une mouche qui mesure entre 4 et 5 mm de long (Duyck, 2000). Sa tête est grosse, jaune, avec une bande brune claire entre les deux yeux à reflet vert émeraude. Le thorax est noir à prunosités dessinant des bandes argentées ou grises.

Les ailes présentent des colorations typiques en bandes et des taches noires, se différenciant de n'importe qu'elle autre espèce des mouches des fruits (Weems, 1981 ; Vayssiers et al., 2008).

L'abdomen est brun jaunâtre avec des bandes transversales grises. Les ailes sont larges et présentent trois bandes orangées.

Le mâle et la femelle sont facilement distinguables grâce à deux caractéristiques morphologiques ; le mâle est muni de soies céphaliques orbitales noires et aplaties en lamelle à l'apex dont le rôle est inconnu. La femelle possède une tarière de ponte bien visible (oviscapte) (Duyck, 2005). La figure 15 montre un mâle et une femelle ainsi que la différence au niveau de l'extrémité abdominale entre les deux sexes.

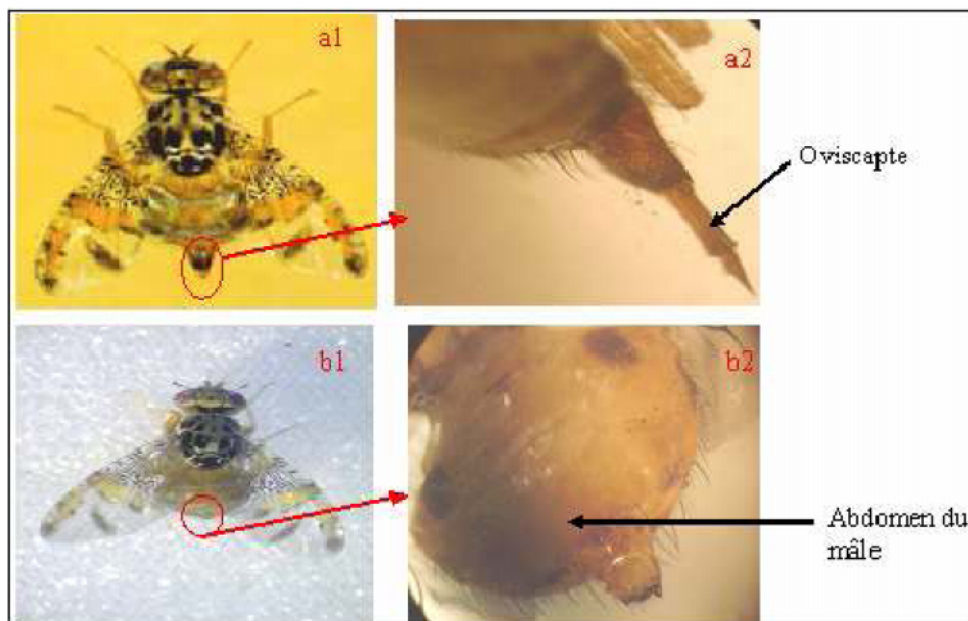


Figure 15 : adulte de la cératite (a1 et a 2 : femelle ; b1 et b2: mâle) (Rigamonti, 2005).

5. Cycle de développement :

Le cycle de développement de la cératite est résumé dans **la figure 16**.

5.1. Ponte et incubation :

Les femelles font pénétrer leur ovipositeur jusqu'à une profondeur approximative de deux millimètres (**Filippi, 2003**). Elles déposent entre 5 et 10 œufs par fruit. De plus, elles sont capables d'effectuer plusieurs pontes jusqu'à ce que le nombre total d'œufs pondus atteigne 300 à 400 œufs (**Atcitrus, 2002**).

Le trou de ponte est facile à remarquer sur quelques fruits (agrumes et abricots).

L'incubation des œufs est de 2 à 5 jours en été et plus de 20 jours en hiver.

5.2. Développement larvaire :

La durée du développement larvaire, qui comprend trois stades (L1, L2, L3), peut varier fortement pour une espèce donnée en fonction du fruit hôte.

La larve de troisième stade ou « asticot » quitte le fruit par une brusque détente. Elle retombe sur le sol dans lequel elle s'enfonce pour se nymphoser, donnant alors une puppe. Cette transformation ne dure que quelques heures (**Duyck, 2005**).

De cette puppe émerge un adulte qui recommence le cycle à nouveau (**Sadoudi, 2007**).

D'après **Delrio (1985)**, la durée du cycle de développement de la cératite dans la zone méditerranéenne varie de 20 jours en été à 2 ou 3 mois en hiver.

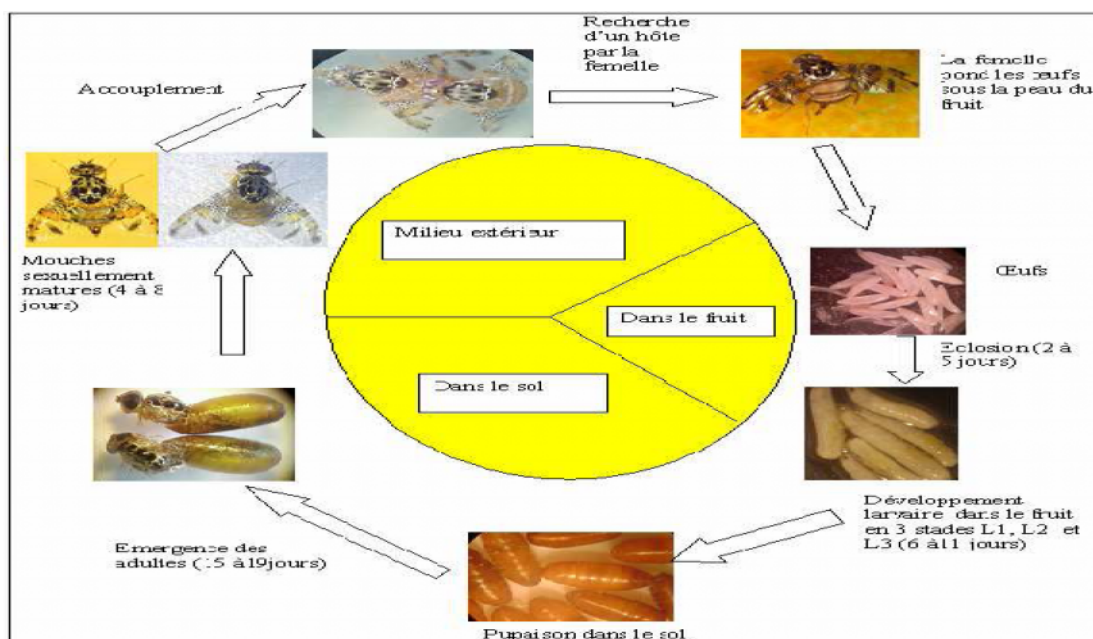


Figure 16 : Cycle de développement de *C. capitata* (**Khimoud et Louni, 2008**).

6. Nombre de générations :

L'évolution complète de la cécidite est très variable pour une même région. Elle dépend des facteurs climatiques, particulièrement la température mais également des espèces fruitières sur lesquelles ont lieu les pontes (**Khoury, 1998 ; Ramade, 2003**).

Ainsi, on dénombre 12 à 13 générations de cécidites à Honolulu, 12 à Calcutta, 9 au Caire, 6 à 7 dans le Sud de l'Italie, 5 sur le littoral algérien, 3 ou 4 à Nice et 2 dans la région parisienne (**Balachowsky et Mesnil, 1935**).

Oukil (1995) a résumé le nombre de générations possibles en Algérie comme suit (**Fig. 17**):

- La première génération qui a lieu en mars-avril ne se trouve que sur les oranges tardives;
- la deuxième génération est composée d'individus peu nombreux et passe presque inaperçue au cours du mois de mai;
- la troisième génération apparaît en juillet où on assiste à des pertes sur des fruits à noyaux (pêche, abricot, prune);
- la quatrième génération s'étale de la fin août jusqu'au début du mois de septembre ;
- les deux dernières générations se développent sur les agrumes.

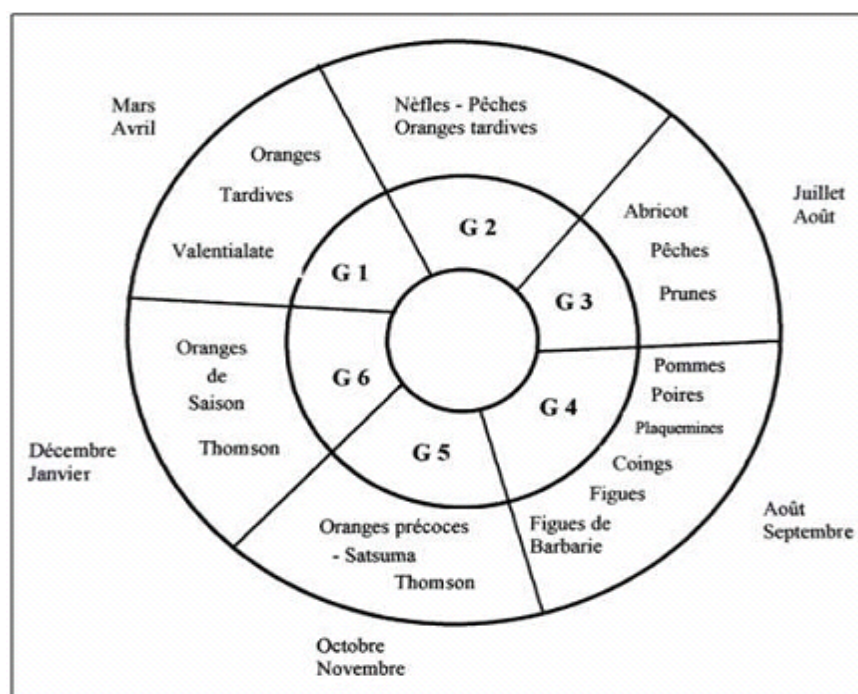


Figure 17: Schéma représentant le nombre de générations possibles en Algérie (**Oukil, 1995**).

6. Dégâts causés par la cératite :

La cératite, ravageur polyphage, est caractérisée par la ponte dans les fruits après leur véraison jusqu'à la maturité complète. Ceci fait que les époques d'infestation coïncident avec la chronologie de maturation des espèces (**Lachiheb, 2008**).

Les dommages causés par la cératite sont des piqûres de pontes et des galeries dans les fruits engendrées respectivement par les femelles et les larves.

En outre, ces galeries et ces piqûres constituent une voie de pénétration à des champignons et des bactéries, responsables de la décomposition et la chute prématurée des fruits. Ces dégâts constituent un obstacle majeur pour les exportations en raison de la dévalorisation de la marchandise et des mesures de quarantaine imposées par certains pays importateurs.

La cératite s'attaque aux variétés précoces et tardives et celles à peau mince (**Chouibani, 2003**).

8. Lutte :

La méthode de lutte contre la cératite repose sur le piégeage de masse à l'aide d'attractifs spécifiques des femelles ou attractifs alimentaires et insecticides (**Quillici et al., 2002**).

8.1. Lutte chimique :

Pour faire face aux dégâts provoqués par la cératite, la lutte est basée sur des interventions répétées utilisant des insecticides de contact (Malathion, Fenthion, Deltaméthrine) malgré les conséquences sur les équilibres biologiques et sur l'insecte lui-même qui développe des phénomènes de résistance (**Lekchici, 1982**).

Afin de réduire l'utilisation de pesticides pour une meilleure protection de l'environnement, il est recommandé l'application de pulvérisations localisées auxquelles est adjoint un attractif alimentaire et /ou sexuel.

Ces dernières années, un mélange de Spinosad, substance d'origine naturelle, et d'un attractif alimentaire incorporé à la matière active, a permis d'abaisser significativement le niveau de

la population de la cératite. Ce mélange présente l'avantage d'être moins toxique à l'égard d'organismes non-cibles (**Vergoulas et al., 2002**).

8.2. Lutte biotechnologique :

C'est une lutte qui consiste à faire des lâchers massifs de mâles stérilisés aux rayons gamma de l'espèce en question dans la nature, où ils rentrent en compétition avec les mâles naturels, la descendance est alors stérile, cette technique a été utilisée contre *Ceratitis capitata* au Costa Rica, en Espagne, en Italie, au Mexique, au Nicaragua, au Pérou et en Tunisie.

L'avantage important de cette méthode est la protection de l'environnement vu que les agriculteurs vont éviter la lutte chimique, sans compter les charges qui seront diminuées.

8.3. Lutte biologique :

La lutte biologique est de tradition séculaire (prédation de la cochenille *Icerya purchasi* par une mouche sur les agrumes de Californie vers 1890), elle a été formalisée avec la création d'une organisation non-gouvernementale lors du Congrès International d'Entomologie de Stockholm en 1948.

Aussi, la lutte biologique représente un champ d'application pour un grand nombre de disciplines scientifiques et techniques classiques de la protection des cultures, dont les premières furent la phytopathologie et l'entomologie agricole (**Sforza et Sheppard, 2004**).

8.3.1. Lutte par les prédateurs :

Wong et al., en **1984** ont utilisé au laboratoire la fourmi *Irydomyrmex humilis* qui a provoqué 50% de mortalité au bout de dix minutes d'attaque pour 7 fourmis /larve.

Eskafi et Kolbe (1990) signalent la prédation par la fourmi *Solanopsis geminata* qui consomme 7 à 25 % des larves de *C. capitata* dans les vergers de caféiers et d'orangers ; aux conditions naturelles, cette prédation est influencée par la température et l'heure de la journée.

8.3.2. Lutte microbiologique :

La microsporidie *Octosporea muscaedomestica* est à l'origine d'une grande mortalité chez la mouche méditerranéenne *C. capitata* et *Bactrocera oleae* au laboratoire, mais son application reste hypothétique aux conditions naturelles (**Ormières et al., 1977**). Cette microsporidie contamine les stades larvaires du phytoparasite et les tue 5 à 7 jours après l'infestation.

8.3.3. Lutte parasitologique :

Elle se fait par l'utilisation d'insectes parasitoïdes qui ont un comportement intermédiaire entre les parasites et les prédateurs puisqu'ils ont besoin d'un autre organisme pour se développer et qu'ils tuent toujours les hôtes qu'ils attaquent (**Godfray, 1994**). Le succès reproducteur de ces organismes dépend directement du nombre et de la qualité des hôtes qu'ils exploitent au cours de leur vie.

En Algérie, le Braconidae *Opius concolor* semble être le parasitoïde naturel de ce ravageur comme le signalent les travaux effectués à Tlemcen par **Gaouar en 1991, Hassani en 2003 ; Selka en 2006 et Bensenouci en 2008**.

PARTIE III : POUVOIR ALLELOPATHIQUE DES CITRUS CONTRE LES AGRESSIONS PHYTOPATHOGENES

1. Généralités

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées.

En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques : tanins et flavonoïdes) qui sont inégalement répartis chez les plantes (**Macheix et al., 2005**).

L'allélopathie est l'ensemble de plusieurs interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre ou sur des micro-organismes et parasites pathogènes au moyen le plus souvent de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes (**Rice, 1984**). Lorsque ces interactions sont négatives, on parle d'amensalisme.

Ces composés allélochimiques jouent un rôle important dans la compétition aux ressources environnementales que sont l'eau, la lumière et les substances nutritives ; dans l'armement chimique de défense des plantes contre leurs prédateurs, et dans la coopération intra- et interspécifique (**Dobremez et al., 1995**).

L'incorporation de ces substances allélopathiques dans la gestion de l'agriculture peut réduire l'utilisation d'herbicides, de fongicides et d'insecticides ; diminuant ainsi la détérioration de l'environnement (**Worsham, 1991**).

Le terme d'allélopathie a été introduit pour la première fois par Hans Molisch, scientifique autrichien spécialiste de la photosynthèse, en 1937, pour décrire les interactions biochimiques néfastes et bénéfiques entre tous les types de plantes incluant les micro-organismes. Le terme resta ignoré jusqu'à ce que l'écologue américain Elroy Leon Rice l'utilise à nouveau au début des années 1960 pour expliquer la rapide disparition des herbes pionnières dans les champs abandonnés en Oklahoma puis, lorsqu'en 1984, il renforce cette définition dans sa monographie sur l'allélopathie (la première sur ce sujet) : « **Tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante (micro-organismes inclus) sur une autre, par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement** ».

Ces composés biochimiques sont appelés composés allélochimiques. Ils peuvent être classés en grande partie comme métabolites secondaires, qui sont généralement considérés comme étant des composés ne jouant aucun rôle dans le processus du métabolisme essentiel à la survie des plantes.

On trouve parmi ces composés des acides phénoliques, des flavonoïdes, des terpénoïdes, des alcaloïdes, et des glucosinolates. Ces produits allélochimiques sont présents dans pratiquement tous les tissus de la plante; des fruits, des fleurs, des feuilles en passant par la tige aux racines et rhizomes. Aussi au niveau du pollen et des graines.

Ils sont libérés de la plante à l'environnement au moyen de quatre processus écologiques : volatilisation, lixiviation, exsudat racinaire (on parle dans ce cas de télétoxie) et décomposition des résidus de la plante.

Les interactions allélopathiques sont souvent le résultat d'action jointes de plusieurs composés différents. Les activités biologiques des plantes réceptrices sont dépendantes de la concentration des produits allélochimiques c'est-à-dire qu'il n'y a émission d'une réponse que lorsque la concentration en produits allélochimiques atteint un certain seuil.

Faute de mobilité, les plantes ont dû s'adapter aux attaques prédatrices d'autres organismes tels les insectes, les champignons et les bactéries ; cela par des mécanismes chimiques de défense pouvant avoir plusieurs fonctions. Ils peuvent être insecticides, antimicrobiens, voire pour certains herbicides (**Inderjit and Keating, 1999**). Actuellement, plus de 30 000 métabolites secondaires sont connus et ce, grâce à l'analyse phytochimique de plantes supérieures.

2. Composés allélopathiques

Une des singularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la cellule, ne semble pas nécessaire tout en pouvant l'être au niveau de la plante entière. Le fait que ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces indique qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général et qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal : ce sont des métabolites secondaires.

2.1. Nature chimique

Ces composés allélochimiques sont généralement des molécules de bas poids moléculaire, qui peuvent être hydrophiles ou lipophiles. Parmi ces composés, on trouve des acides phénoliques, des quinones et des terpènes. On peut citer la catéchine, l'acide élagique, la tellimagrandine, l'acide salicylique, l'acide férulique parmi les polyphénols ; la p-benzoquinone et la DMBQ parmi les quinones ; 1,8cinéole, 1,4cinéole, pinène parmi les monoterpènes (Dobremez et al., 1995).

2.2. Mode d'action au niveau biochimique et cellulaire

Les composés allélopathiques se comportent comme des herbicides naturels ; ils ont souvent plusieurs sites d'action et des effets divers sur les organismes cibles. Certains allélochimiques agissent en inhibant la photosynthèse, ce qui ralentit la croissance des phototrophes.

2.2.1. Quinones

Les quinones génèrent des oxygènes activés, responsables de leur toxicité.

Certaines substances agissent sur l'expression des gènes des organismes cibles. La DMBQ (quinone) émise par les racines hôtes induit le développement de plantes parasites en régulant l'expression de certains gènes, impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, la synthèse d'actine et de tubuline, l'extension des parois végétales et synthèse de GTP bindingprotein. La l-carvone de *Menthaspicata*, ses dérivés (limonène, p-cymène et isoprène) et plus généralement les terpénoïdes avec un motif p-menthane insaturé induisent l'expression des gènes bph des bactéries du genre *Arthrobacter*, responsables du catabolisme des PCB. Il existe probablement un récepteur aux structures isoprènes trouvées dans les monoterpènes, responsable de la régulation de l'expression de ces gènes. Mais les différents procédés par

lesquels de nombreuses plantes sélectionnent les génotypes cataboliques bactériens en réponse aux pollutions sont mal connus (**Worsham, 1991**).

2.2.2. Terpènes

Beaucoup de classes de monoterpènes volatils inhibent la croissance végétale comme le 1,8-cinéole (eucalyptol), le 1,4-cinéole, le pulegone, l'alpha et le bêta pinène. Le 1,4-cinéole inhibe la croissance des racines de certaines herbes en inhibant l'Asn-synthase au niveau du site de liaison de la glutamine.

2.2.3. Phénols

A l'échelle de l'organisme, les composés phénoliques assurent la protection contre les formes toxiques issues de l'oxydation initiale des lipides et participent à l'équilibre cellulaire d'oxydo-réduction (**Manak et al., 2004**).

Le rôle des composés phénoliques est maintenant reconnu dans différents aspects de la vie de la plante et dans l'utilisation que fait l'homme des végétaux, ils peuvent intervenir :

- Dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...);
- dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relation avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV...), soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux ;
- dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par transformation ;
- dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquelles apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini.
- dans la protection de l'homme vis-à-vis de certaines maladies en raison de leurs propriétés antioxydantes.

Les acides phénoliques peuvent perturber l'absorption minérale par la plante : l'acide salicylique (o-hydroxybenzoïque) et l'acide férulique (4-hydroxy-3-méthoxycinnamique) inhibent l'absorption d'ions K⁺ dans les racines d'*Avenasativa*. Le degré d'inhibition dépend de la concentration de l'acide phénolique et du pH (la diminution de pH entraîne une augmentation de l'absorption des composés phénoliques et donc de l'inhibition). Cette perturbation est due au fait que les acides phénoliques dépolarisent le potentiel membranaire des cellules racinaires ce qui modifie la perméabilité membranaire et ainsi le taux d'effluve d'ions, aussi bien anions que cations. L'étendue de la dépolarisation croît avec l'augmentation de la concentration en acides phénoliques, spécialement avec l'acide salicylique (**Manak et al., 2004**).

3. Participation des composés phénoliques à la résistance des plantes aux parasites :

L'implication des composés phénoliques dans la résistance des végétaux aux agents pathogènes recouvre trois aspects complémentaires :

- L'existence des barrières phénoliques constitutives, préexistant à l'infection et qui peuvent en limiter les effets ; deux groupes principaux participent à la défense de la plante contre l'infection par les agents pathogènes : d'une part ceux formant des barrières physiques, en particulier la lignine, d'autre part les composés solubles forment une barrière chimique efficace contre les agressions d'origine animale ou microbienne, parmi eux, les tanins jouent un rôle important au cours de l'évolution des végétaux en leur conférant un avantage adaptatif vis-à-vis des herbivores et des agents pathogènes (**Haslam, 1989 ; Grayer et al., 1994**).
- La stimulation de la biosynthèse de phénols déjà présents dans la plante avant l'infection mais qui vont être accumulés en plus grande quantité ;
- La biosynthèse de phytoalexines : Ce terme désigne des métabolites secondaires de faible poids moléculaire formés par la plante à la suite de l'infection et représentant une activité antimicrobienne nette. Parmi les phytoalexines phénoliques, on trouve des coumarines, des ptérocarpanes qui dérivent des isoflavonoides, des stilbènes... La nature des phytoalexines produites par une plante est généralement caractéristique de l'espèce végétale considérée, indépendamment de la nature de l'agent pathogène inducteur (**Macheix et al., 2005**).

4. Principaux composés phénoliques chez les agrumes :

4.1. Tanins :

Utilisés depuis l'antiquité par l'homme pour le traitement des peaux d'animaux, les tanins ont une importance économique et écologique considérables et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés (thé, vin, ...). En première approximation, on peut considérer que les tanins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont divisés en deux groupes :

4.1.1. Tanins hydrolysables :

Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (le plus souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être de l'acide gallique (Figure 18) (Macheix *et al.*, 2005). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 1996).

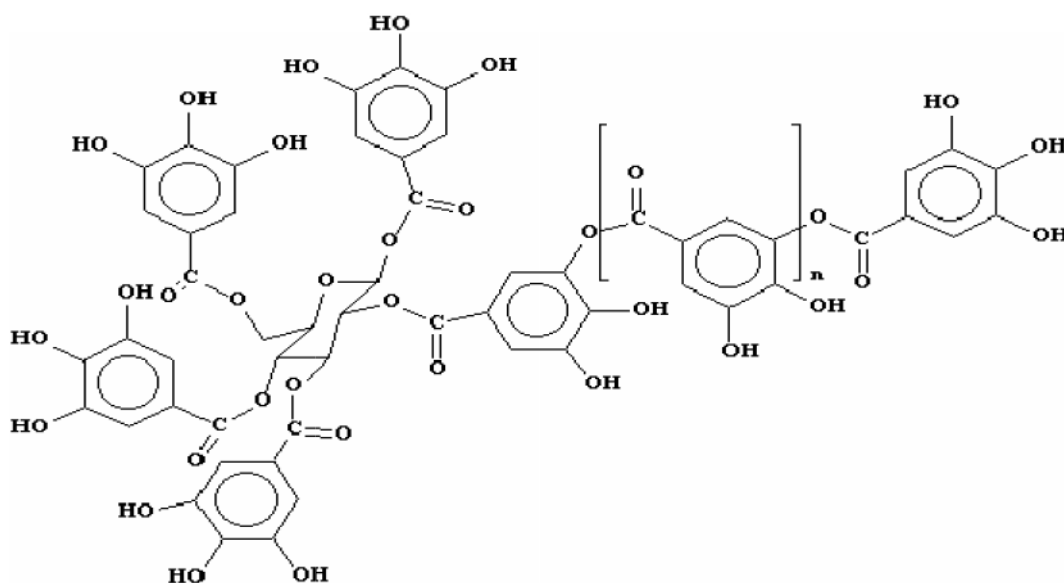


Figure18 : Structure de tanin hydrolysable (gallotanin) (Wawrzyniakl, 2006)

4.1.2. Tanins condensés :

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols dérivés de la (+) – catéchine ou de ses nombreux isomères (**Figure 19**). A la différence des tanins hydrolysables, ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides dilués (**Guignard, 1996 ; Macheix, 2005**).

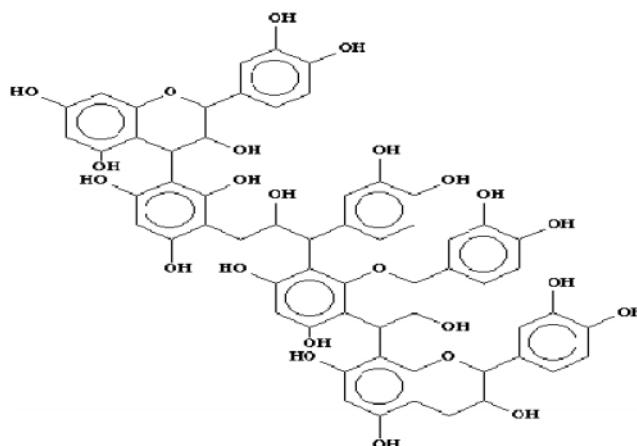


Figure 19: Structure de tanin condensé (la catéchine) (**Wawrzyniakl, 2006**)

4.2. Flavonoïdes :

Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement U.V. (**Hadi, 2004**).

Les flavonoïdes possèdent de remarquables activités biochimiques et pharmacologiques dues surtout à leurs pouvoirs antioxydant, antibactérien, antiviral et anti-inflammatoire. Ils sont proposés en ophtalmologie en cas de trouble circulatoire au niveau de la rétine ou de la choroïde et pour l'amélioration de la vision crépusculaire (**Bruneton, 1999**).

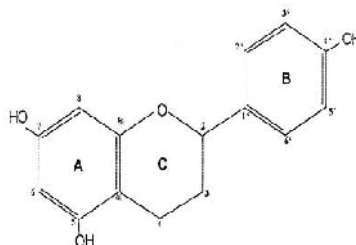


Figure 20 : Structure de flavonoïdes (**Wilmsen et al., 2005**).

5. Huiles essentielles :

5.1. Définition :

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

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

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

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

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

5.2. Composition chimique des huiles essentielles :

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

Selon **Bachelot et al. (2006)**, les huiles essentielles contiennent un grand nombre d'éléments biochimiques. Les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers et les terpènes.

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

5.3. Effets physiologiques et physiques des huiles essentielles :

5.3.1. Effets physiologiques :

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité ainsi que le développement des insectes et acariens.

Des travaux récents montrent que les monoterpènes inhibent la cholinestérase (**Keane et Ryan, 1999**).

En général, les huiles essentielles sont connues comme des neurotoxiques à effet aigu interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des arthropodes (**Fanny, 2008**).

5.3.2. Effets physiques :

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires.

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

- repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation ;
- comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques ;
- réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse (effets allélopathiques) ;
- action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables.

5.4. Action des huiles essentielles :

Les monoterpènes qui rentrent en grande majorité dans la composition des huiles essentielles présentent une toxicité inhalatrice, ovicide, larvicide, adulticide à l'égard de différents

ravageurs. Ces monoterpènes ainsi que les composés polyphénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (**Regnault et al., 2002**).

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

Selon **Ngamol et Hance (2007)**, les constituants des huiles essentielles sont des sources potentielles d'insecticides botaniques.

5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

5.5.1. Distillation :

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

5.5.2. Hydrodistillation :

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

5.5.3. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau.

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme et al., 1990**).

5.5.4. Hydrodiffusion :

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

5.6. Activités biologiques des huiles essentielles :

5.6.1. Activités antimicrobiennes :

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

5.6.1.1. Activité antibactérienne :

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

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

5.6.1.2. Activité antifongique :

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

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus saligna* et d'*Eucalyptus camaldulensis* ont montré un effet fongistatique vis-à-vis de *Phaeoramularia angolensis* (**Jaset-Dongmo et al., 2008**).

Piacentini en 1949 in (Fisher et Phillips, 2008) a noté pour la première fois, les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de *Citrus* en solution, qui sont plus puissantes que les phénols comme désinfectants.

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

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

5.6.1.3. Activité antivirale :

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

5.7. Activité liée à la composition chimique :

L'efficacité d'une huile essentielle dépend de sa richesse en composés phytochimiques, plus l'huile essentielle est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques et cétoniques).

Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des huiles essentielles et semblent agir en synergie avec les composés principaux (**Zhiri, 2006**).

Les composés chimiques qui ont le plus d'efficacité et à large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (-terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et rarement les terpènes (**Dorman et Deans, 2000**).

Par ce travail, nous nous proposons de connaître l'activité antiparasitaire et antifongique des différents types de composés phénoliques et des huiles essentielles intervenant chez l'oranger *Citrus sinensis*, grâce à son pouvoir allélopathique, afin de proposer un moyen de contrôle biologique issu de produits naturels, permettant de restreindre au maximum l'utilisation des pesticides.

Partie 1. Présentation de la zone d'étude :

1. Situation géographique de la wilaya de Tlemcen

La wilaya de Tlemcen se situe au nord-ouest de l'Algérie, entre 34° et 35°30' de latitude nord et 1°20 à 2°30' de longitude ouest. Elle est limitée par la Mer Méditerranée au nord, par la wilaya de Naâma au sud, à l'est par les wilayas de AinTémouchent et de Sidi Bel Abbès et par la frontière algéro-marocaine à l'ouest (**Fig 21**)

C'est une région essentiellement agricole avec une production très variée (légumes, légumes secs, fruits, céréales...) et une production animale principalement avicole.

L'agriculture dans cette région occupe une superficie totale de 350.000 ha. Elle est caractérisée par la production des agrumes dont les superficies occupées se présentent comme suit (**Tab 04**) :

Tableau 04: Répartition des agrumes dans la Wilaya de Tlemcen.

Espèces		Ferme Pilote	Secteur privé	Total général
Citronnier	Superficie (ha)	02	150	152
	Production (Qx)	100	7700	7800
Oranger	Superficie (ha)	43	1430	1473
	Production (Qx)	900	88600	89500
Mandarinier	Superficie (ha)	00	23	23
	Production (Qx)	00	1450	1450
Clémentinier	Superficie (ha)	08	304	312
	Production (Qx)	350	20900	21250
Total agrumes	Superficie (ha)	53	1907	19600
	Production (Qx)	1350	118650	120000

Source : Direction des Services Agricoles (Tlemcen).

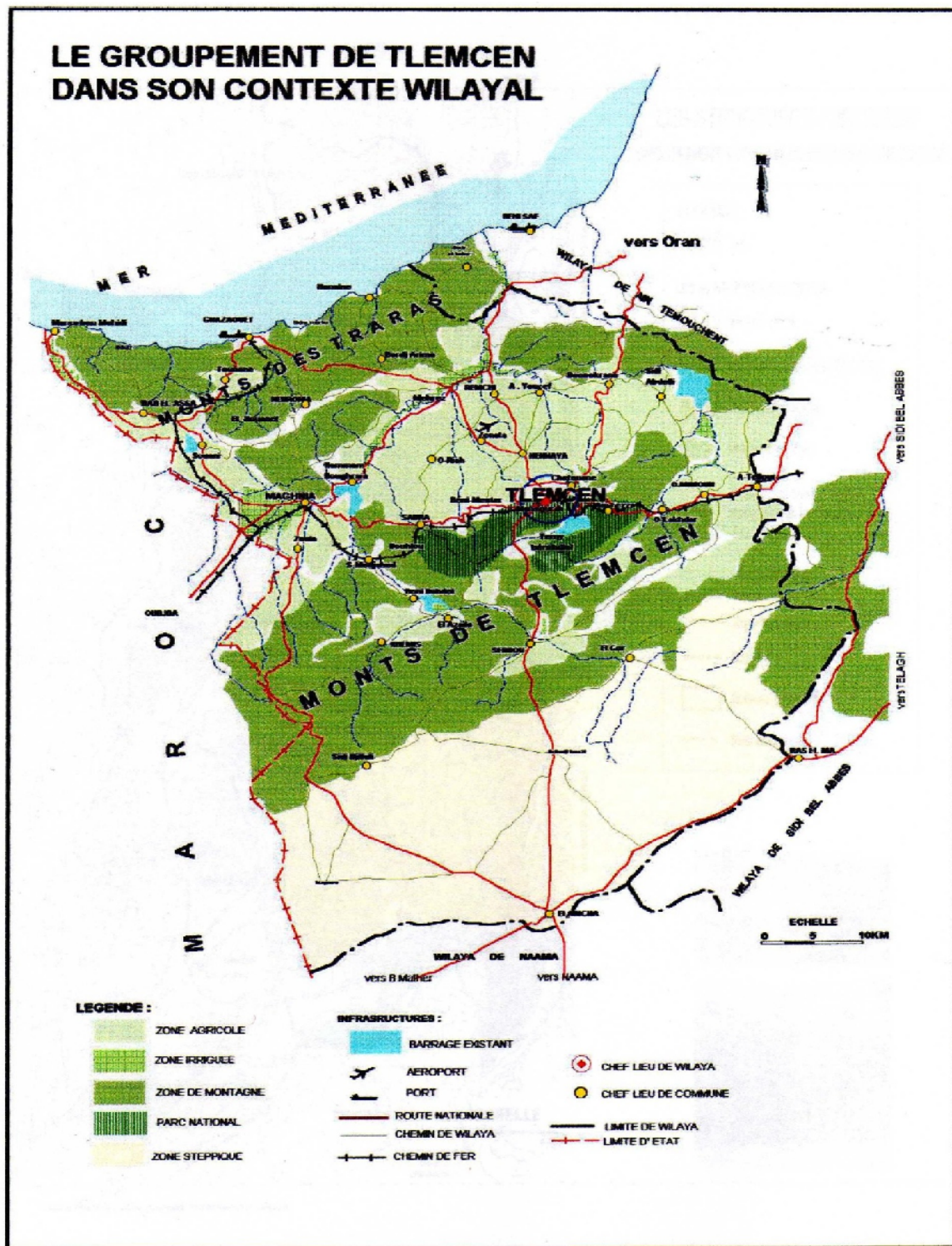


Figure21 :Situation géographique de la wilaya de Tlemcen (P.D.A.U, 2006).

2. Situation de la région de Maghnia

La commune de Maghnia à laquelle appartient notre station d'étude s'étend sur une surface de 294 km². Elle est située au nord-ouest de la wilaya de Tlemcen ; elle est limitée au nord et à l'est par la commune de Boughrara et les massifs des Traras qui l'isolent de la Mer Méditerranée, au sud par la commune de Béni Boussaid et par les contreforts des Monts de Tlemcen, et à l'ouest et au sud-ouest par le Maroc.

La station étudiée est un verger d'oranger *Citrus sinensis* de la variété Washington navel ayant une superficie de 3ha.

Ce verger est entouré par d'autres arbres comme pommiers, poiriers et oliviers.

3. Climat :

La région de Maghnia est sous l'influence du climat méditerranéen, caractérisé par une saison hivernale froide et humide avec des précipitations irrégulières et une grande luminosité, et une saison estivale longue et sèche à température élevée.

Les données météorologiques utilisées ont été recueillies au niveau de la station de Maghnia, proche de notre station d'étude.

Tableau 05 :Données géographiques de la stationmétéorologique.

station	Latitude	Longitude	Altitude
Maghnia	34°48'	01°46'	450m

Notre étude climatique est basée essentiellement sur les données de deux paramètres : les précipitations et les températures.

3.1. Précipitations et variations pluviométriques saisonnières :

La pluviométrie est un facteur primordial dans le fonctionnement de la nature. En effet, les précipitations sont l'un des facteurs climatiques qui conditionnent le maintien et la répartition du tapis végétal d'une part, et la dégradation du milieu naturel par le phénomène d'érosion d'autre part.

La quantité est mesurée à partir de postes pluviométriques, situés dans les lieux représentatifs d'une région, elle s'apprécie par le régime saisonnier ou annuel.

Les valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles, de 2004 à 2014, sont représentées par la **figure 22**.

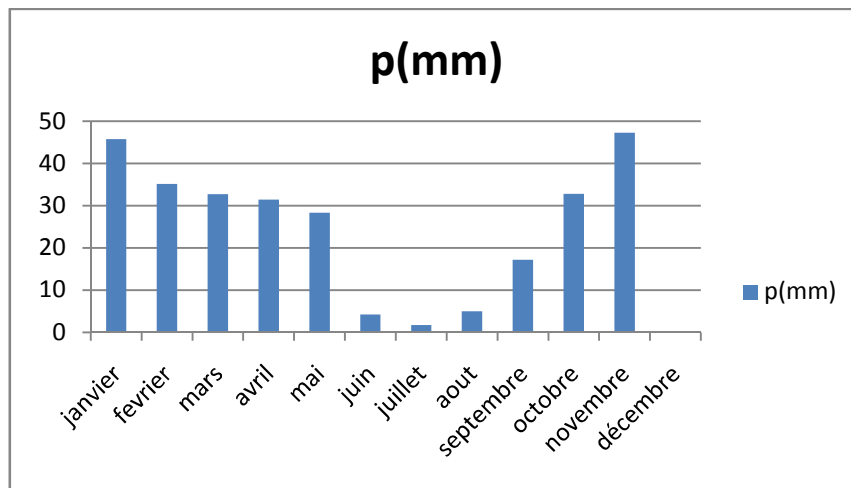


Figure 22 : Valeurs moyennes mensuelles de la pluviométrie sur 10 cycles de la station de Maghnia.

L'histogramme montre que le mois de juillet est le plus sec et le mois de novembre le plus arrosé.

Le régime des pluies montre mieux la répartition des précipitations annuelles entre les diverses périodes et le plus souvent entre les divers mois de l'année.

Le régime pluviométrique est défini généralement pour l'année, moyenne afférente à une longue période.

Tableau 06 : Régime saisonnier des précipitations pour la période 2004-2014.

Période	Répartition saisonnière des pluies				Ensemble des pluies	Régime saisonnier
	Hiver	Printemps	Été	Automne		
2003-2013	116,85mm	92,51mm	10,98mm	97,22mm	317,56mm	H.A.P.E

La comparaison des quantités pluviométriques des quatre saisons de l'année donne les résultats suivants, classés selon un ordre décroissant (**tab.06**) :

-Hiver : décembre, janvier, février (p= 116,85mm) ;

-Automne : septembre, octobre, novembre (p= 97,22mm) ;

-Printemps : mars, avril, mai (p= 92, 51mm) ;

-Eté : juin, juillet, août (p= 10,98mm).

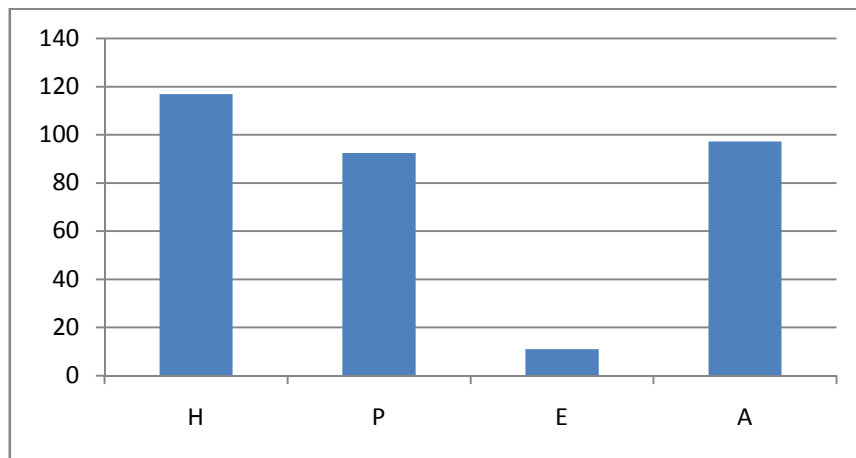


Figure23 : Répartition saisonnière des pluies (2004-2014).

3.2. Les vents :

Selon **Elhai (1974)**, les vents se distinguent par deux caractéristiques durant l'année :

-première caractéristique : elle concerne une partie de l'année dont la température est basse et la pluviométrie est élevée. Cette période est dominée par des vents de direction ouest et sud-ouest durant le jour et nord à sud-ouest pendant la nuit avec une forte intensité ;

-deuxième caractéristique : elle concerne l'autre période de l'année qui connaît une température élevée et une pluviométrie faible arrivant jusqu'à 0 mm. Les vents d'est sont dominants le jour et une partie de la nuit avec une faible intensité.

3.3. Température :

Elle joue un rôle primordial dans la plupart des phénomènes écologiques. Sa durée au cours du cycle nyctéméral (photopériode) contrôle l'ensemble du cycle vital des espèces

animales (phénomènes d'hibernation ou de diapause par exemple, mais aussi la maturation sexuelle. (**Ramade, 2003**).

Les températures moyennes mensuelles calculées sur la période allant de 2004 à 2014 sont données dans le tableau suivant :

Tableau 07: Températures moyennes mensuelles à la station de Maghnia de 2004 à 2014.

Mois	jan	Fév	Mar	avr	Mai	Juin	Juil	Aout	Sep	Oct	Nov	Déc
T(°C)	9.65	10.80	12.90	15.47	18.95	23.48	27.02	27.40	23	19.27	14.02	10.45

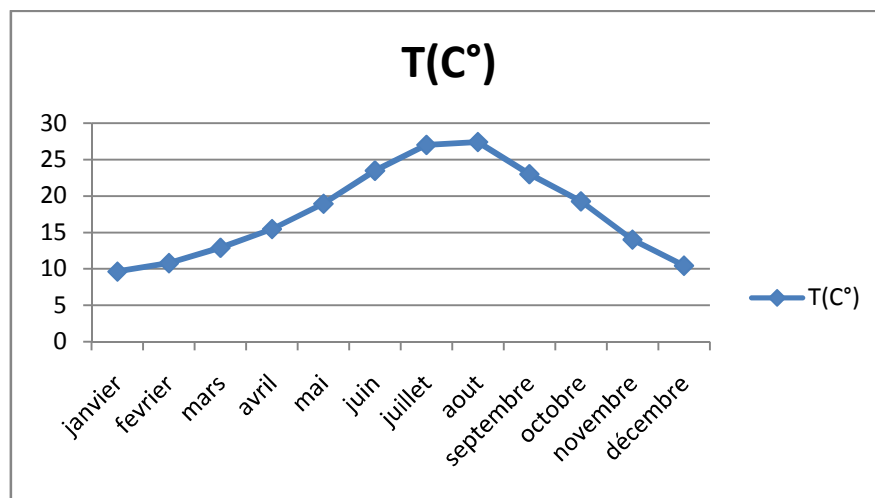


Figure 24 : Variations des températures mensuelles moyennes pour la période 2004-2014.

Durant la période de 2004-2014, les températures moyennes les plus élevées marquent les mois les plus chauds que sont juin, juillet, août et septembre, alors que les mois les plus froids correspondent aux saisons d'automne et d'hiver.

3.4. Synthèse bioclimatique :

La synthèse bioclimatique est indispensable à tout projet relatif à l'environnement, elle conditionne, par le biais de ses composantes, le type du climat et la couverture végétale.

Pour réaliser cette synthèse, nous avons retenu le diagramme de **Bagnoulset Gaussen (1953)** et l'indice d'**Emberger (1952)**.

En effet, la combinaison des deux paramètres climatiques, températures et précipitations, a permis à ces auteurs la mise au point de plusieurs indices qui rendent mieux compte du climat et de la végétation existants.

a. Diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen :

Bagnouls et Gaussen (1953) ont optimisé l'utilisation des valeurs des précipitations et des températures en les représentant sur le diagramme ombrothermique pour pouvoir suivre leur évolution simultanée, afin de déterminer la période sèche.

L'échelle préconisée par ces auteurs est $P = 2T$, avec P exprimé en (mm) et T en degrés Celsius. Nous avons tracé le diagramme ombrothermique pour l'ensemble des dix ans (2004-2014) pour la station de Maghnia.

Le mois le plus humide est celui où le total des précipitations est égal ou supérieur au double de la température selon la relation $P \geq 2T$.

Le mois le plus sec est celui où le total des précipitations est inférieur au double de la température $P < 2T$.

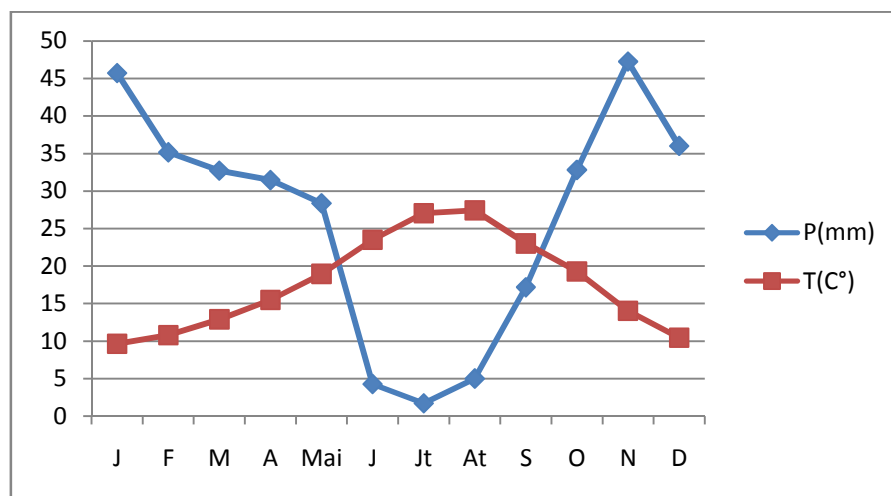


Figure 25 : Diagramme ombrothermique de la période (2004-2014) de la station de Maghnia.

L'analyse du diagramme ombrothermique (**fig.25**) de 2004 à 2014, nous donne cinq mois de sécheresse, de mai à septembre.

La période pluvieuse, se caractérise par la présence de deux pics pluviométriques (janvier et novembre).

b. Quotient pluviothermique et climagramme d'Emberger :

L'utilisation du quotient pluviothermique (Q₂) est spécifique au climat méditerranéen, il a été utilisé avec succès en Afrique du nord et en France méditerranéenne.

Emberger (1952) a subdivisé la région méditerranéenne en cinq étages bioclimatiques (**Fig.26**).

Ce quotient permet de tracer des diagrammes qui déterminent l'aire géographique d'une espèce donnée.

Pour connaître les variations de températures dans la zone étudiée, on utilise classiquement la moyenne (M) des maxima du mois le plus chaud et la moyenne (m) des minima du mois le plus froid.

Il est exprimé par les valeurs de l'équation suivante :

$$Q_2 = 2000P / M^2 - m^2$$

Avec :

P : moyenne annuelle des précipitations (exprimée en mm).

M : moyenne des maxima du mois le plus chaud (en degrés Kelvin).

m : moyenne des minima du mois le plus froid (en degrés Kelvin).

$$T^{\circ}K = T^{\circ}C + 273,2.$$

Les données pour la période (2004-2014) sont :

$$P: 317,58\text{mm} \qquad 2000.P = 635160.$$

$$M : 34,9 + 273,2 = 308,1^{\circ}K \qquad M^2 = 94925,61$$

$$m : 2,97 + 273,2 = 276,17^{\circ}K \qquad m^2 = 76269,86$$

$$Q_2 = 2000.P / M^2 - m^2$$

$Q_2 = 34,04$

Le quotient d'Emberger, calculé et reporté sur le climagramme (fig.26), place la région d'étude en ambiance bioclimatique semi-aride inférieure à hiver tempéré.

Q_2

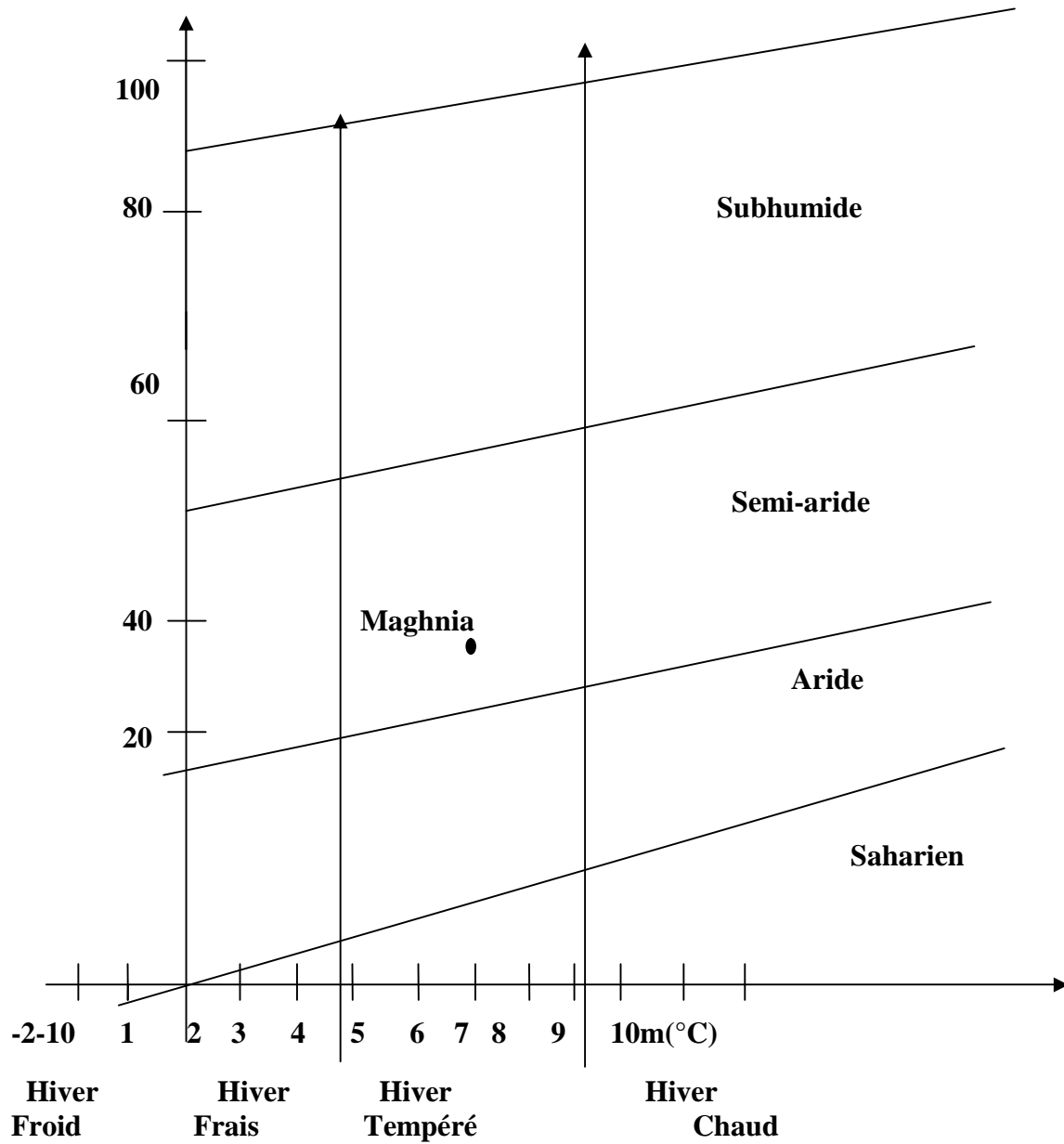


Figure26 : Climagramme d'Emberger pour notre région d'étude (2004-2014).

Partie II : Etude entomologique

L'étude bioécologique de ce phytophage dans notre région est réalisée à partir des élevages effectués au laboratoire.

Les principaux caractères étudiés sont :

Le taux d'infestation des agrumes par le ravageur *Ceratitiscapitata* à partir du nombre de trous de ponte et de fruits chutés et les taux de mortalité larvaire et pupal ainsi que les durées de développement des différents stades de la mouche.

1. Matériel pour élevage :

- Des cuvettes en plastique contenant du sable ;
- Eponges mouillées ;
- Tulles ;
- Des boîtes de Pétri.

2. Méthodes

2.1 Echantillonnage des agrumes

L'échantillonnage des arbres est fait aléatoirement dans tout le verger visité lors de nos sorties. Celles-ci sont effectuées au mois de novembre et décembre, tant que les oranges ne sont pas récoltées.

Le principe de cet échantillonnage consiste à choisir le premier arbre qui se situe en général en début de l'alignement, puis à échantillonner les autres arbres un peu partout dans le verger.

L'échantillonnage aléatoire

Les techniques d'échantillonnage aléatoire reposent sur le hasard. Les unités statistiques sont désignées par le hasard et ont toute la même chance d'être choisies.

Quatre prélèvements sont effectués au niveau de notre verger, selon un échantillonnage aléatoire pendant la période de notre étude à raison d'un prélèvement chaque vingt jours.

Nous nous sommes basés sur trois facteurs :

- la date de prélèvement ;
- l'arbre échantillonné ;
- l'orientation des fruits.

2.2 Mise en élevage :

Pour connaître le taux d'infestation au sein de notre verger d'oranger de la variété Washington navel, nous nous sommes limités à l'étude des fruits chutés puisqu'ils ont perdu leur valeur marchande.

Au laboratoire, la méthode est simple, elle consiste à mettre des oranges dans des cuvettes contenant du sable(**fig.27A**) pour permettre l'enfouissement des nymphes et des larves issues de ces fruits, une éponge mouillée assure l'hygrométrie nécessaire au développement des différents stades de l'insecte.

Ces fruits sont préalablement observés pour dénombrer le total des larves qui vont nous informer sur les taux de mortalité larvaire et pupal, ainsi que sur les taux d'infestation relatifs à ces stades.

On peut estimer les taux d'infestation à partir des trous de ponte, des larves, ou larves plus pupes plus trous de sortie, représentant le total des larves.

Chaque cuvette est recouverte de tulle pour éviter toute perturbation externe et empêcher les futurs imagos de s'envoler, l'émergence de ces derniers est contrôlée quotidiennement pour les dénombrer et les nourrir par une substance sucrée (miel industriel + eau) pour les maintenir en vie dans des bocaux (**fig 27.B**), un maximum de temps, et d'estimer leur longévité aux conditions de laboratoire.

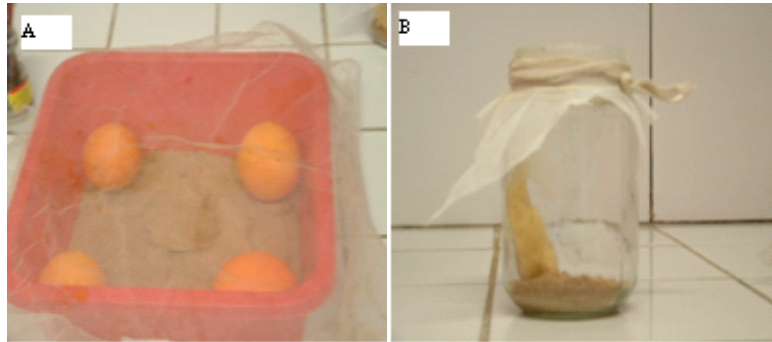


Figure 27 : matériel d'élevage au laboratoire

2.3 Analyses statistiques des données :

Les résultats obtenus sont testés par les analyses de variance et les corrélations linéaires.

2.3.1. Analyse de variance:

L'analyse de variance à un facteur (Anova 1) est utilisée pour tester l'influence de l'orientation et de l'arbre sur les trous de ponte et les fruits chutés, car on ne peut les associer tous les deux. Les calculs sont effectués à l'aide du Minitab16.

2.3.2. Corrélation et régression :

- Coefficient de corrélation linéaire

Pour savoir s'il existe une dépendance entre la date et les nombres de piqûres des oranges infestées, nous avons calculé les coefficients de corrélation linéaire.

Principe : pour établir une relation d'indépendance entre deux variables X et Y, il suffit de calculer le coefficient de corrélation :

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{n\sigma_x \times \sigma_y} = \frac{\text{Cov}(X, Y)}{\sigma_x \times \sigma_y}$$

r est compris entre -1 et +1

-si r=0 il n'y a pas de corrélation linéaire entre les variables X et Y ;

-si $r > 0$ il existe une liaison positive entre les deux variables ;

-si $r < 0$ il existe une liaison négative entre les variables ;

-si les deux variables suivent une loi normale, on peut tester le coefficient de corrélation par rapport au zéro en calculant la quantité $t = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$, qui est distribuée, sous l'hypothèse H_0 selon loi de Student à $(n-2)$ ddl.

Si $t > t$ théorique, la corrélation entre les deux variables est jugée significative ; il existe alors une dépendance statistique entre elles.

- **Droite de régression**

S'il existe une corrélation significative entre les variables X et Y, on peut établir une droite de régression. Elle permet d'estimer des valeurs de Y connaissant certaines valeurs de X. ce qui nous permet de prédire l'évolution ou l'effectif de l'un des stades en connaissant ceux de l'autre, si r^2 est positif.

Partie III : Etude mycologique

1. Echantillonnage :

L'échantillonnage aléatoire nous permet d'étudier le taux d'infestation par la mycoflore pathogène dans le verger d'agrumes, nous avons analysé des fruits sains et contaminés.

Les échantillons sont immédiatement placés dans des sachets en plastique stériles, bien scellés et placés dans une glacière. Les analyses sont réalisées dans les heures qui suivent le prélèvement.



Figure28 : photo du prélèvement

1.2 Isolement et dénombrement de la flore fongique :

a. Méthode d'Ulster (Larpen, 1990)

C'est une méthode de mise en évidence des moisissures de surface. Elle consiste à prendre au hasard des oranges saines et malades, y découper 06 à 08 morceaux (1cm/1) d'écorce de chacune d'entre elles et de les faire ensemencer sur les milieuxPDAa = (potatoes dextrose agar acidifiée).

L'incubation se fait à $25 \pm C^{\circ}$ pendant 5 à 7 jours.

Pour éviter la contamination bactérienne, le milieu PDA est acidifié jusqu' à pH de 4,5 à 5 en ajoutant 1 ml d'acide lactique à 25 % par flacon.

b. Purification :

Nous avons procédé à la purification des différentes souches de moisissures issues des deux méthodes, en appliquant plusieurs repiquages successifs sur milieu PDAA, jusqu'à l'obtention d'isolats purs. Ces derniers sont repris sur des tubes de PDAA inclinés et incubés à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant une semaine ou plus. Afin d'assurer leur conservation, les tubes sont gardés à 4°C .

c. Identification des moisissures :

L'identification est une étude corrélatrice entre les caractères cultureux macroscopiques et les caractères microscopiques.

- Les caractères cultureux : leur étude se fait à l'œil nu et à la loupe binoculaire. Ils se basent essentiellement sur l'aspect morphologique des colonies, la texture du thalle, la couleur du revers de la boîte de Pétri et la pigmentation des spores ainsi que l'odeur et la vitesse de croissance.
- Les caractères microscopiques sont observés grâce à deux méthodes : soit par la méthode de microculture, soit par la méthode de scotch qui est la plus facile.

La technique de microculture, décrite par **Harris** en **1989**, consiste à inoculer les spores des moisissures sur des lames munies de petits carrés de PDAA solidifiés et les couvrir par des lamelles.

Les spores sont ensemencés sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé, afin qu'ils puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 3 à 5 jours.

Après l'incubation, les lamelles auxquelles adhère le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol pour l'observation microscopique aux grossissements x10, x40, x100. Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de **Barnett(1972)**.

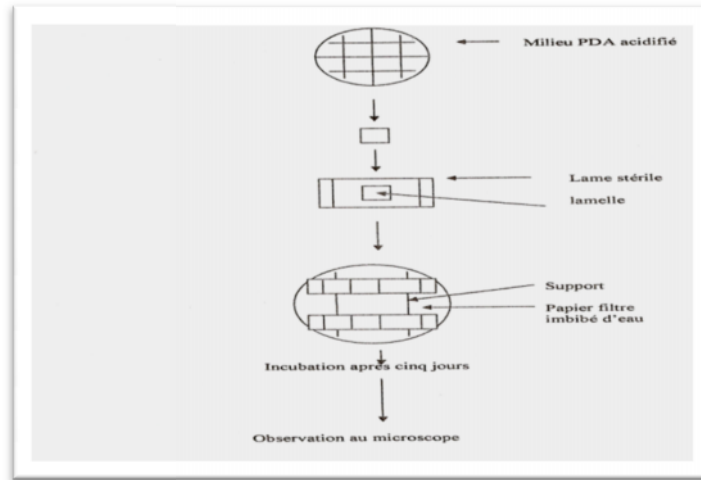


Figure 29 :Technique de microculture (Harris, 1989).

Partie IV : Etude des composés phénoliques

Pour les différentes analyses chimiques qui concernent l'étude du pouvoir allélopathique des oranges saines et infectées de notre région, elles sont récoltées dans la région de Maghnia durant les quatre prélèvements (15/11/2013, 30/11/2013, 9/12/2013 et le 25 /12/2013).

Au laboratoire, leurs écorces sont séchées puis stockées à l'abri de la lumière et l'humidité jusqu'à leurs utilisation ultérieure.

1. Plan de travail

Pour cette étude phytochimique nous avons utilisé le protocole suivant (**fig. 30**)

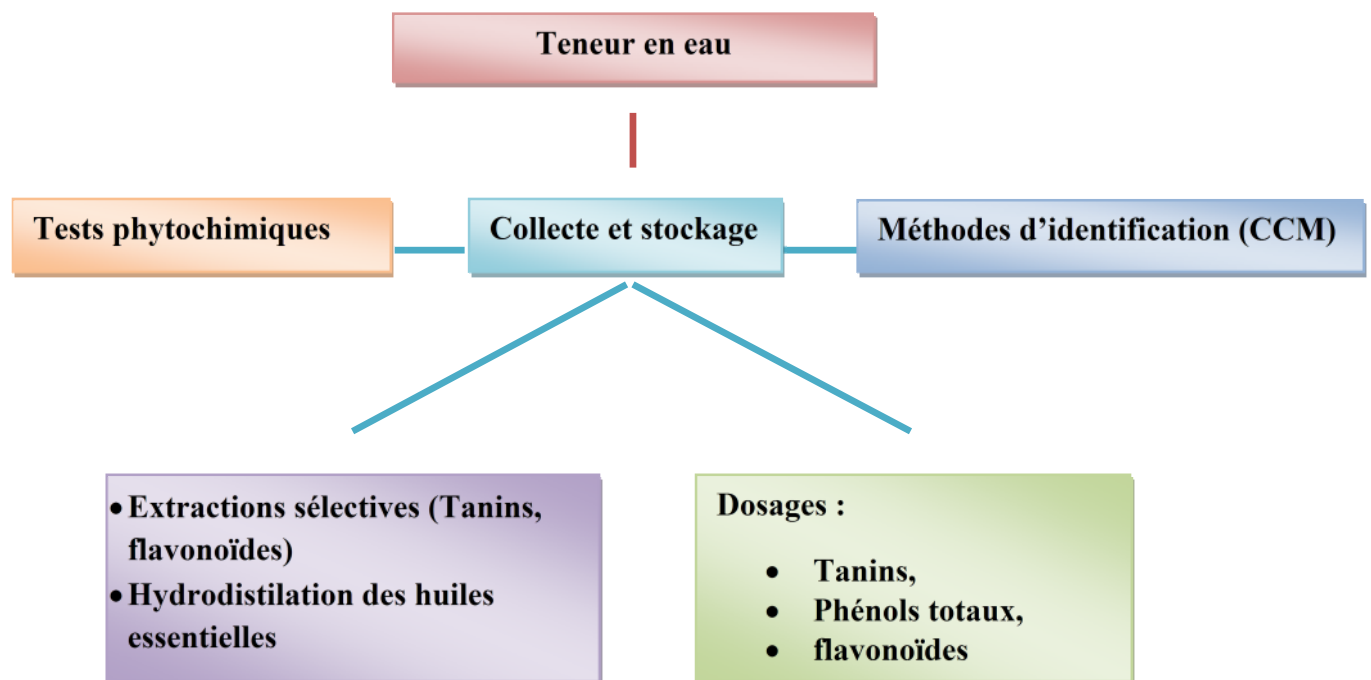


Figure30 : Plan de travail.

1.1 Détermination de la teneur en eau :(Audigie et *al.*, 1980)

La détermination de la teneur en eau est effectuée, par une dessiccation de la biomasse, dans une étuve isotherme de 100 à 105°C jusqu'à une masse pratiquement constante.

❖ Mode opératoire:

- Introduire dans deux vases 2 g de matériel biologique frais : c'est le poids P1 ;
- Placer les dans une étuve réglée à 105°C pendant trois heures ;
- Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec un temps réduit (une heure seulement) jusqu'à ce que la différence entre les deux pesées ne soit plus significative (inférieure à 0.005).

❖ Expression des résultats :

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (H\%)} = (P - P1 / m) \times 100$$

Dont :

P1 : masse de la prise d'essai en gramme avant séchage ;

P : masse de la prise d'essai en gramme après séchage ;

m : masse du matériel biologique.

$$\text{Taux de la M.S (\%)} = 100 - H (\%)$$

M.S : matière sèche ;

H : teneur en eau.

1.2 Tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques permettent de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques, essentiellement les composés phénoliques, les alcaloïdes...

D'après la bibliographie, l'écorce de l'oranger est très riche en flavonoïdes et à un degré moindre, en tanins et en huiles essentielles qui fournissent une partie des terpénoïdes. Pour ce faire, nous avons préféré nous rendre compte de leur présence ou de leur absence en utilisant

des tests simples et rapides, pour que l'on puisse déterminer leurs rendements et leurs quantités.

❖ **Principe :**

La mise en évidence s'effectue par des tests phytochimiques réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur l'échantillon à analyser.

- Essais de solubilité des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques : eau, éthanol, méthanol, chloroforme et éther diéthylique ;
- Réaction de coloration et de précipitation ;
- Examen sous la lumière ultraviolette.

❖ **Mode opératoire :**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, 5g d'échantillon séché à l'air sont extraits par Soxhlet en utilisant les solvants suivants: l'eau distillée, méthanol, éthanol, chloroforme et l'éther diéthylique. Les extraits bruts sont filtrés, concentrés, à l'aide d'un rotavapeur et stockés à 4°C pour être utilisés pour les analyses ultérieures (**Trease et Evans, 1987**).

❖ **Test pour les tanins :**

1ml de l'extrait éthérique, éthanolique ou aqueux sont mélangés avec 10ml d'eau distillée et filtrés. L'addition de 3 gouttes du réactif Chlorure ferrique $FeCl_3$ préparé à 1% permet de détecter la présence ou non des tanins.

La couleur vire au bleu noir en présence de tanins hydrolysables (tanins galliques) et au brun verdâtre en présence des tanins condensés (tanins catéchiques) (**Trease et Evans, 1987**).

❖ **Test pour les flavonoïdes :**

5ml de la solution diluée d'ammoniac (NH_3^+) est ajouté à l'extrait aqueux filtré, elle est suivie par l'addition de l'acide sulfurique concentré.

L'apparition d'une couleur jaune qui disparaît après un certain temps indique la présence des flavonoïdes (**Harborne, 1973 ; Sofowara, 1993**).

❖ Test pour les alcaloïdes :

Dans un bain-marie on mélange 0.2ml de l'extrait aqueux éthanolique ou étherique avec 5ml d'une solution aqueuse de HCl préparée à 1% (en utilisant un agitateur avec barreau magnétique).

Après filtration, un volume de 1ml du filtrat est traité par 3 gouttes du tétraiodo-mercurate de potassium connu sous le nom du réactif de Mayer (**voir annexe 03**), alors que l'autre quantité (1ml) est traitée par le réactif de Wagner (**voir annexe 03**). Toute turbidité ou précipitation indique la présence des alcaloïdes (**Harborne, 1973 ; Sofowara, 1993**).

❖ Test pour les saponosides (Dohouet *al.*, 2003) :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Nous avons procédé à une décoction, 2g de poudre végétale avec 100 ml d'eau distillée. On porte à ébullition pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1, 2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en centimètre. Si elle est proche de 1 cm dans le X^{ème} tube, alors l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \text{hauteur de mousse (en cm) dans le X}^{\text{ème}} \text{ tube} * 5 / 0,0X.$$

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100.

❖ Test pour les dérivés anthracéniques:

Nous avons préparé un extrait chloroformique pour le test des anthracéniques libres et un hydrolysât pour les tests des anthracéniques combinés (**Paris *et al.*, 1969**).

♦ **Extrait chloroformique :** Dans un tube à essai, nous introduisons 2g de poudre végétale et 10 ml de CHCl₃, nous fermons le tube. Après chauffage au bain-marie bouillant pendant 1 minute et filtration sur papier buvard, nous complétons à 10 ml avec du CHCl₃.

♦ **Hydrolysât :** le résidu de poudre épuisé par le CHCl₃ est additionné de 10 ml d'eau distillée et 1 ml de HCl concentré. Après un chauffage au bain-marie bouillant pendant 15

minutes, nous ssons la solution sous un courant d'eau et filtré. Le filtrat est complété à 10 ml avec de l'eau distillée.

La coloration plus ou moins rouge de l'extrait chloroformique (1ml) additionné de NH₄OH dilué au demi, indique la présence des quinones.

1.3.Extractions sélectives :

1.3.1.Extraction des tanins (Bruneton, 1999) :

10 g de poudre végétale sont ajoutés à 20 ml d'eau distillée et à 50 ml d'acétone. Porter l'ensemble à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours.

Filtrer et extraire la solution 2x50 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanté et extraire la phase aqueuse 4x50 ml d'acétate d'éthyle, ensuite évaporer le solvant à sec (**Bruneton, 1999**).Enfin, calculer le rendement des tanins quantitativement.

1.3.2.Extraction des flavonoïdes

20 g de poudre végétale sont mis à macérer dans un mélange hydro alcoolique (méthanol/eau; 70/30 v/v), sous reflux pendant 2 heures. Après filtration, les solutions hydro-méthanoliques sont concentrées à sec sous pression réduite et à une température 60°C (**Harborne, 1998**).

Les résidus secs obtenus, après évaporation du filtrat méthanolique, sont repris dans 200 ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée (l'opération est répétée deux fois), puis séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60 °C. Le résidu sec est repris, par quelques millilitres de méthanol ou DMSO. Cette fraction est la phase d'acétate d'éthyle.

La phase aqueuse issue de l'extraction avec l'acétate d'éthyle est reprise dans 200 ml du n-butanol (l'opération est répétée deux fois). La phase n-butanol est séchée au rotavapeur à 60°C (**Bekkaraet al.,1998**). Ensuite on calcule le rendement.

Expression des résultats : on calcule le rendement par la formule suivante :

(Poids du ballon +(l'extrait)- poids du ballon vide)x 100.

1.3.3.Extraction des huiles essentielles :

Après séchage du matériel végétal, on procède à l'extraction par la technique d'hydrodistillation (**fig.31**).

900g de zeste d'orange sont additionnés à l'eau (2500ml), l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile essentielle H.E se séparent par différence de densité.

L'huile extraite est conservée à une température voisine de 5°C, dans des flacons en verre opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière, des variations de température, qui sont les principaux agents de dégradation. Une huile altérée perd son activité biologique.



Figure 31 : Dispositif d'hydrodistillation.

Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter (**Carre, 1953 in Bekhchi-Benhabib, 2001**).

$$\text{Rd}\% = \frac{\text{m1}}{\text{m0}} \times 100.$$

m1 : masse en gramme d'huile essentielle ;

m0 : masse en gramme de la matière végétale sèche ;

Rd : rendement en huile essentielle.

1.4. Dosage des composés phénoliques :

1.4.1. Dosages des phénols totaux:

❖ Extraction :

• Principe :

L'extraction des polyphénols consiste à macérer à froid la poudre de l'échantillon à analyser dans une solution d'acétone aqueuse pendant 24 heures.

L'acétone aqueuse et le méthanol aqueux, avec des proportions entre 70% et 50% (V/V), sont les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols.

L'acétone aqueuse est généralement plus efficace que le méthanol aqueux (Yu et Dahlgren, 2005).

• Mode opératoire :

Une prise d'essai de 1g de l'échantillon est macérée avec 50ml du mélange acétone/eau (70% V/V) pendant 24 heures.

Après filtration sous vide, le mélange acétone /eau est évaporé à sec, sous pression réduite, à 45°C.

Le dosage des polyphénols est déterminé par le réactif de **Folin-Ciocalteu** selon le procédé de **Singleton et Rossi (1965)** et reporté par **Dogyan et al. (2005)**.

❖ Préparation de l'échantillon :

Le résidu obtenu après l'extraction est dissout dans 5ml d'eau distillée, puis 100µl de cette solution mère sont dilués à 1/10 ; ensuite on ajuste le volume à 3 ml, enfin on y ajoute 0.5ml du réactif de **FolinCiocalteu**.

- laisser réagir pendant 3 minutes ; puis ajouter 2ml de carbonate de sodium à 20% ;
- vortexer le mélange et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure ;
- lire l'absorbance à 650 nm ;
- on obtient une valeur x mg/g.

Tous les tests sont effectués trois fois.

❖ **Préparation de l'étalon : (voir annexe 03).**

❖ **Expression des résultats :**

La teneur totale en composés phénoliques est calculée en Pyrrocatechol équivalent (mg PE/g MS), à partir de la courbe d'étalonnage de Pyrrocatechol solution standard (gamme 1-15 mg/ml), donnant une équation sous la forme:

$$\text{Absorbance} = 0,1324 \text{Pyrrocatechol (mg / mL)} - 0,0357 \quad (R^2 = 0,9973)$$

L'équation est donnée ci- dessous (fig.32). :

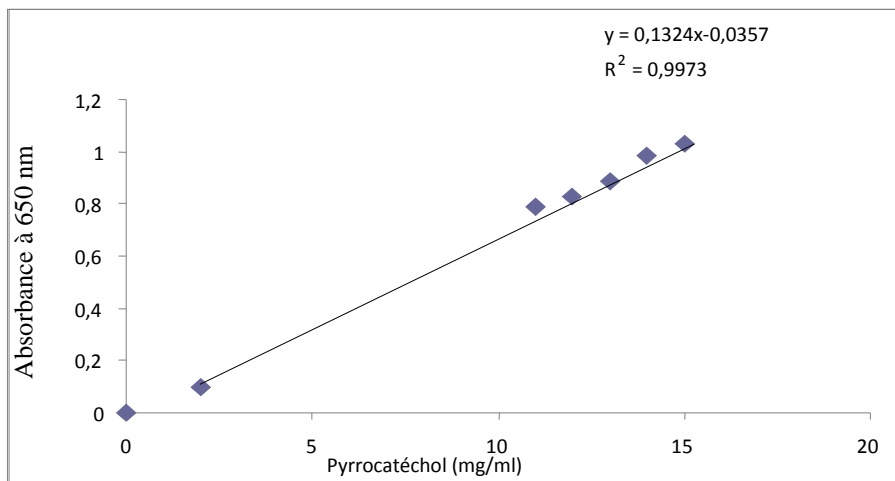


Figure 32 : Courbe d'étalonnage standard pour le dosage des polyphénols.

1.4.2. Dosage des flavonoïdes :

Cette teneur est déterminée sur la base de la formation de flavonoïde aluminium (Djeridane et al., 2006). 1 ml de chaque échantillon extrait est mélangé avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2%. Après une incubation de 15 min à température ambiante, l'absorbance à 430 nm est déterminée à l'aide du Spectrophotomètre UV / Vis JEN6405.

La courbe d'étalonnage est réalisée avec de la rétine (0.1.1 large mg /ml), ce qui donne l'équation suivante:

$$\text{Absorbance} = 2,3023 \text{Rétine (mg / ml)} + 0,021 \quad (R^2 = 0,992)$$

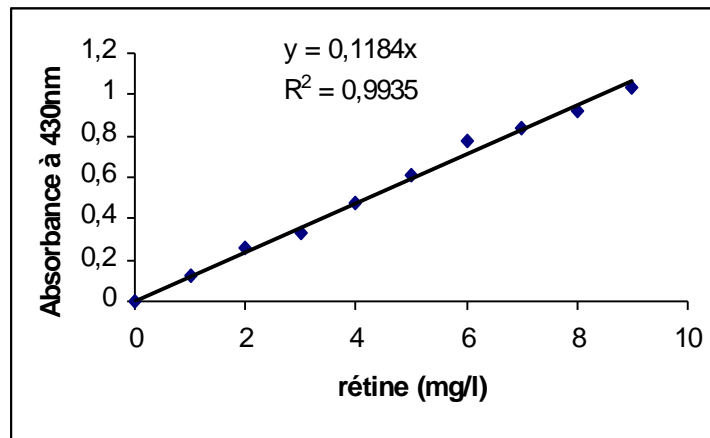


Figure 33: courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.

Les résultats sont exprimés en équivalent Rétine(mg QE/gMS).

Les tests sont répétés trois fois.

1.4.3.Dosage des tanins :

Extraction des tanins par le polyvinyle polypyrrolidone (PVPP) :

❖ Principe :

Extraire les polyphénols totaux de l'échantillon par l'acétone/eau et utiliser une matrice insoluble, le polyvinyle polypyrrolidone (**PVPP**), substance capable de se complexer avec les tanins (polyphénols de haut poids moléculaire), puis procéder au dosage des polyphénols libres par la méthode de **FolinCiocalteu (FAO/IAEA, 2000)**.

❖ Mode opératoire :

Une prise d'essai de 2g de la poudre d'échantillon est additionnée à 100ml d'acétone/eau à 70%. Après macération de 24 heures, filtration sous vide, le filtrat est évaporé à sec à 45°C. Le résidu obtenu est solubilisé dans 5ml d'eau distillée (extrait qui contient les tanins).

-vortexer le mélange (100mg de PVPP avec 1ml d'eau distillée et 1ml de l'extrait) et le laisser à 4°C pendant 15 minutes ;

-centrifuger à 3000 tours/10 minutes ;

-collecter le surnageant ;

-ce surnageant représente seulement les phénols simples puisque les tanins sont retenus ou précipités par le PVPP. on peut doser les phénols simples par la méthode de FolinCiocalteu (Makkar *et al.*, 1993).

On obtient une valeur **Y** (enmg) de pyrocatéchol/g de matière sèche.

1.5. Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) pour l'identification des composés phénoliques de l'orange :

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélanges complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques.

Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, et un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées. Elle permet également de suivre la progression d'une réaction, étant donné qu'elle indique le nombre de composants dans un mélange réactionnel. La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs matériels tel que :

- **Une cuve chromatographique** : c'est un récipient en verre quadrangulaire fermé par un couvercle maintenu étanche (Fig.34).

- **Une phase stationnaire** : c'est une couche d'absorbant étalée uniformément sur un support en aluminium ou en verre, de dimensions variables (généralement 20 x 20 cm, 10 x 10cm ou 5 x 10cm), avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm. L'adsorbant que nous avons utilisé est le gel de silice (Merck) qui permet la séparation de substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.

- **La phase mobile** : c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé. Pour notre travail, nous avons utilisé comme éluant un mélange de solvants : butanol, acide acétique et eau distillée (66/17/17 : v/v/v).

Préparation de la chromatographie : on trace sur la plaque de gel de silice une ligne de dépôt à 2cm du bord de la plaque et une ligne de front à 1cm du bord supérieur de la plaque.

Les échantillons : ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant. Les échantillons à analyser sont appliqués en petits spots sous forme de points ou de bandes sur l'adsorbant. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée.

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes = 254 nm et 365 nm).

Si nécessaire, les tâches du chromatogramme sont révélées par pulvérisation de réactifs appropriés. On détermine alors, pour chaque constituant, le facteur de rétention:

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le composé}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

- Le **Rf** est caractéristique d'une substance donnée pour un éluant déterminé, sur un support «phase stationnaire» donné ;
- Le **Rf** est le même, que le constituant soit pur ou dans un mélange ;
- Le **Rf** ne dépend pas de la concentration du constituant dans le mélange.

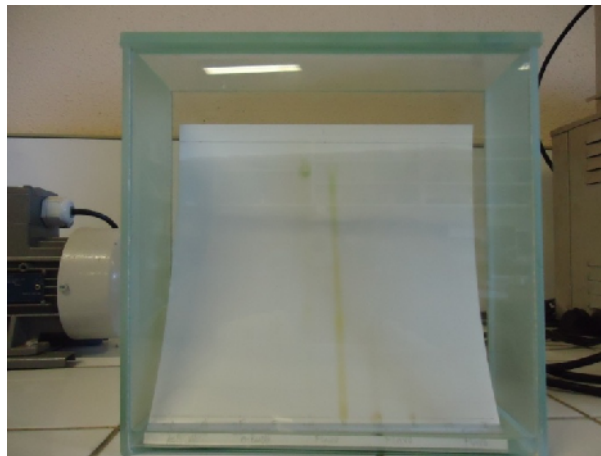


Figure 34 : Principe de la chromatographie sur couche mince.

1.6. Etude de l'activité insecticide :

Pour l'activité insecticide des composés phénoliques contre les différents stades de développement de *C.capitata*, nous avons effectué nos essais avec les extraits flavonoïques, taniques et l'huile essentielle de zeste d'orange, (au Laboratoire de la Mouche Stérile au Centre National des Sciences et Technologies Nucléaires de Sidi Thabet, Tunisie).

- **L'effet des extraits phénoliques :**

Nous avons testé les extraits phénoliques (flavonoïdes avec les deux phases nbutanol et la phase d'acétate d'éthyle, et les tanins).

Pour les adultes, nous avons testé ces extraits avec quatre doses différentes (5µl, 7µl, 8µl et 12µl), on a placé les adultes dans des bocaux(**Fig.35**) qui contiennent le milieu nutritif qui est composé par la levure et le sucre(25%, 75%). la dose de l'extrait est injectée dans le milieu nutritif. Chaque dose est répétée 3 fois. On a suivi le taux de mortalité jusqu'à 72h.

Pour les larves, nous avons testé les deux stades larvaires L1 et L2, avec différentes doses (2µl, 3µl, 4µl et 8µl). Nous avons placé 10 larves de stade L1 dans le milieu d'élevage qui contient la dose d'extrait phénolique, ce milieu est composé par 14% sucre, 7% levure, 28% son de blé, 0,002 benzoïde de sodium, 50% eau et 1,75% HCL de telle sorte on obtient le PH entre 3,4 et 3,8.

Le même mode opératoire est utilisé pour les larves L2.

Le témoin est testé avec le DMSO.

Les tests sont répétés 3 fois.

Nos analyses statistiques traitent les données après 72h.

Le logiciel utilisé est le Stat Graphics.

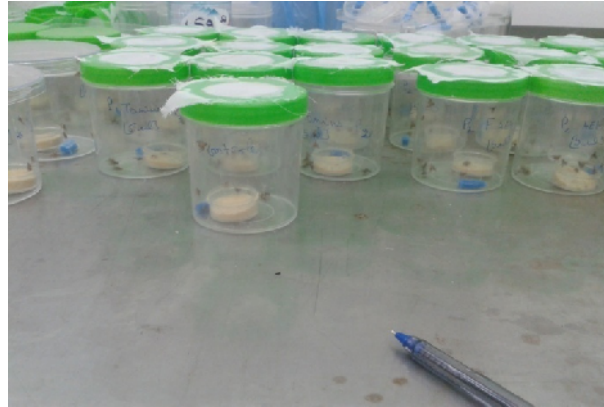


Figure 35 : Le test des extraits phénoliques sur les adultes de *C.capitata*.

- **L'effet de l'huile essentielle :**

Ce test est réalisé par inhalation, on a mis dans des bocaux une masse de coton imbibée d'huile essentielle avec différentes doses (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l), dix insectes sont introduits dans chaque bocal qui seront fermés hermétiquement(**Fig.36**).

La même méthode est utilisée pour tester les larves L1 et L2 avec l'addition de l'huile essentielle avec des concentrations différentes (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l).

Les essais sont répétés trois fois pour chaque dose, des lots témoins sont réalisés en parallèle sans être exposés à l'huile essentielle.

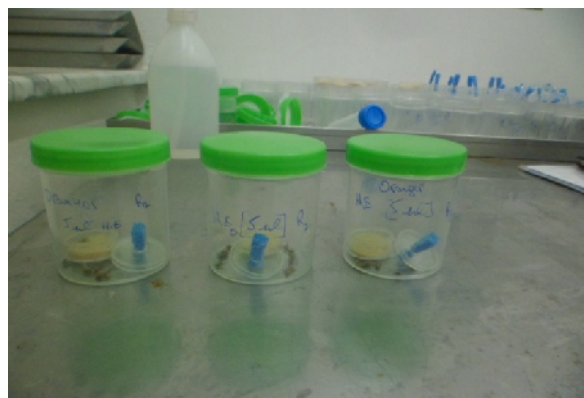


Figure 36 : le test de l'huile essentielle sur les adultes de *C.capitata*.

1.7. Etude de l'activité antifongique :

Pour déterminer l'activité antifongique de nos souches isolées, nous avons utilisé la méthode de contact direct. Les extraits secs d'acétate d'éthyle, butanol et acétone sont dissous dans du DMSO, puis on additionne 4, 8 et 16 µl de chaque extrait à 20 ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai. Après agitation des tubes, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri en verre de 9 cm de diamètre.

L'inoculation se fait par le dépôt au centre de la boîte d'un disque du mycélium d'environ 0,6 cm de diamètre d'une préculture de 3 à 7 jours.

Une boîte de Pétri contenant 20ml le milieu PDA sans extrait est inoculée pour servir de témoin.

Après incubation à $28 \pm 4^\circ\text{C}$ pendant 2 à 7 jours, en tenant compte de la croissance de témoin.

La même méthode est utilisée pour tester l'activité antifongique avec l'addition de l'huile essentielle avec des concentrations différentes (10, 16 et 20 µl).

L'indice antifongique (pourcentage d'inhibition) est déterminé par la formule suivante:

Indice antifongique : $(D_t - D_e) / D_t \times 100$ avec :

D_e : le diamètre de la zone de croissance de l'essai ;

D_t : le diamètre de la zone de croissance du témoin.

Pour chaque concentration 3 tests sont réalisés.

Résultats

Nous avons étudié les infestations des oranges par la mouche méditerranéenne *Ceratitis capitata* à partir des piqûres ou trous de ponte et des fruits chutés.

L'estimation du taux d'infestation est faite en fonction de la date d'observation, de l'orientation des fruits et de l'arbre échantillonné, durant toute la période de notre travail.

Par ailleurs, l'étude mycologique des oranges prélevées montre une diversité de genres présents avec une différence de pourcentage entre les oranges saines et celles qui sont infectées.

Nous avons également comparé les teneurs en composés phénoliques des oranges saines et infectées, ce qui a permis d'obtenir un certain nombre des résultats se rapportant à la réponse allélopathique de l'orange aux attaques des microorganismes (parasites et champignons).

A la fin, nous avons étudié l'activité antifongique et l'activité insecticide des extraits phénoliques et de l'huile essentielle des oranges attaquées.

1. Etude entomologique

L'estimation du taux d'infestation est faite à partir des nombres de trous de ponte, puis à partir des fruits chutés.

Des élevages sont menés au laboratoire à partir des fruits chutés, ramassés sous les arbres échantillonnés. Ces élevages ont pour but de connaître le cycle biologique de la mouche; à savoir les durées des développements larvaire et nymphal ; les taux de mortalité ; le sex-ratio et enfin pour estimer la longévité des adultes ainsi obtenus.

1.1. Etude de l'infestation en fonction des trous de ponte :

Les taux d'infestation des fruits sont estimés à partir du nombre de trous de ponte, comptabilisés sur les oranges in situ.

1.1.1. Effet de l'orientation :

Le taux d'infestation varie d'une orientation à une autre (**Fig.37**)

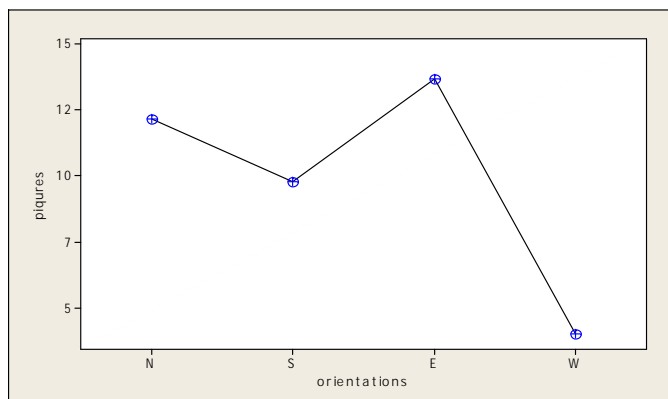


Figure 37 : moyennes de trous de ponte en fonction de l’orientation.

L’infestation des oranges par la cératite ne varie pas d’une manière significative selon l’orientation des fruits dans l’arbre puisque $F_{obs}=1,37$ pour $P= 0,288$.

Cependant, d’après **la figure 37**, les parties nord et est présentent les moyennes les plus élevées de trous de ponte :

source	SC	CM	F	P
orientation	135,9	45,3	1,37	0,288

1.1.2. Effet de l’arbre :

Il existe une différence hautement significative des moyennes pour le facteur arbre, avec $F_{obs}= 9,93$ pour $P= 0,000$.

Source	SC	CM	F	P
orientation	1818,77	43,30	9,93	0,000

Les résultats obtenus montrent que l’arbre a une grande incidence sur l’infestation des fruits, cela est principalement dû à sa phénologie, aux facteurs intrinsèques tels que les substances volatiles qu’il dégage, ainsi qu’à sa position spatiale dans le verger. En effet, souvent les arbres situés aux bords du verger sont les plus attaqués, car ce sont les premiers qui interceptent les mouches provenant des vergers avoisinants (**Fig.38**).

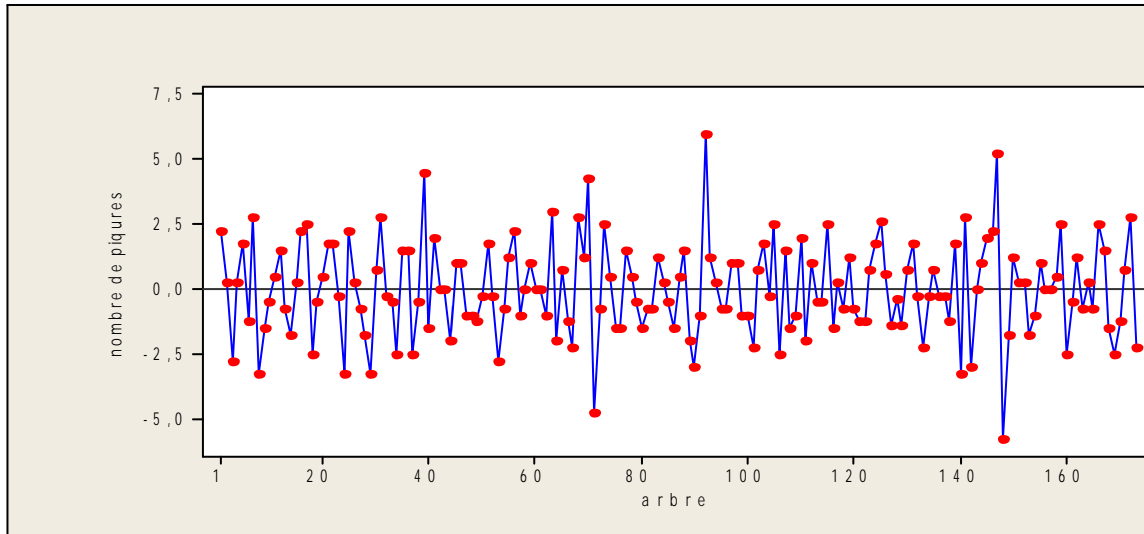


Figure 38 : moyennes de trous de ponte en fonction de l’arbre.

1.1.3. Effet de la date :

L’étude statistique réalisée par l’analyse de variance à un facteur montre qu’il existe une différence hautement significative entre le facteur date et le nombre de trous de ponte avec $F_{obs}=36,74$ pour $P = 0,000$

Source	SC	CM	F	P
date	1661,9	554	36,74	0,000

D’après la **figure 39**, nous remarquons que l’infestation atteint son maximum à la date 1(15/11/2013), puis elle diminue progressivement jusqu’à la date 4(25/12/2013).

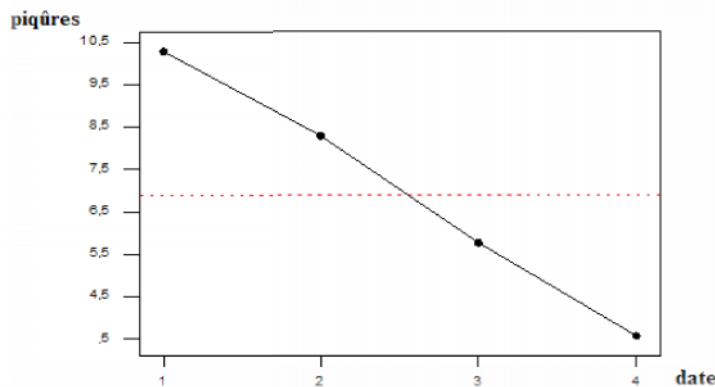


Figure 39: Cinétique des trous de ponte selon la date

1.2. Etude de l'infestation en fonction des fruits chutés :

1.2.1. Effet de l'orientation :

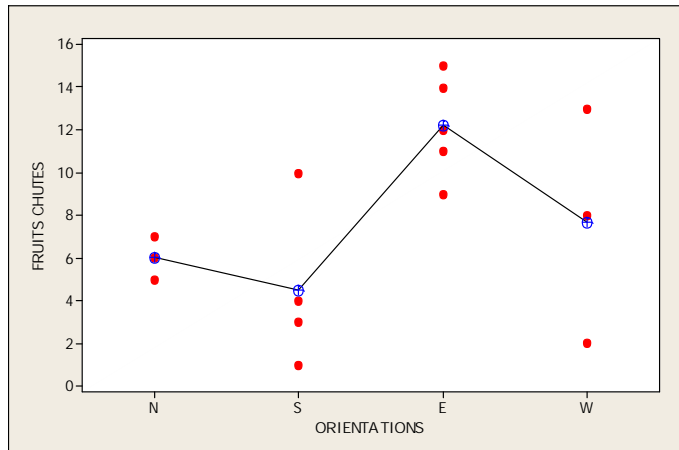


Figure 40 : Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.

L'analyse de variance montre que les fruits chutés varient d'une manière significative d'une orientation à une autre avec $F_{obs} = 4,20$ pour $P = 0,033$.

Les parties est et ouest de l'arbre présentent plus de fruits chutés que les autres.

source	SC	CM	F	P
orientation	149,5	49,8	4,20	0,033

1.2.2. Effet de l'arbre :

D'après la figure 41, nous constatons que les infestations varient fortement selon les arbres échantillonnés.

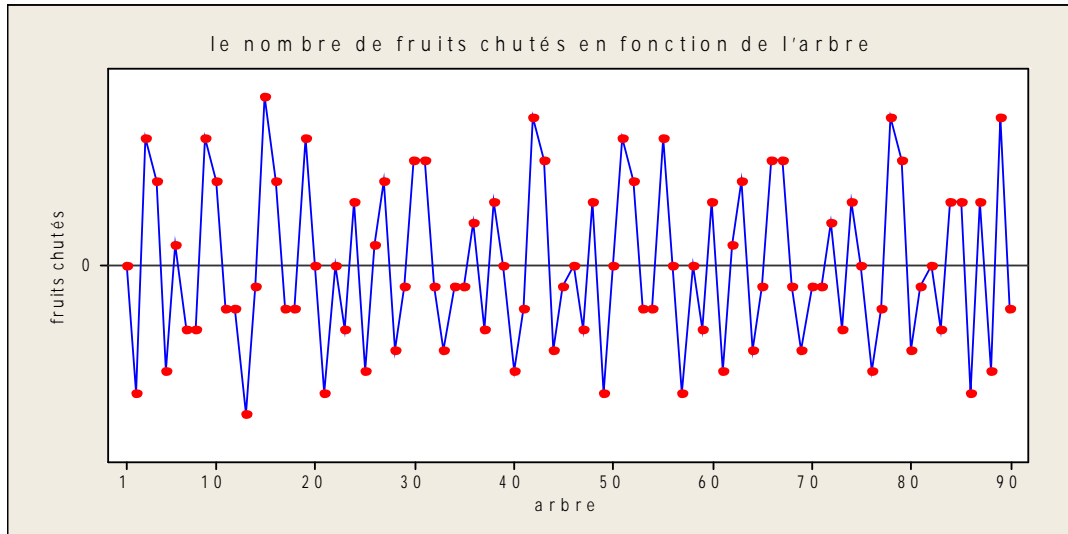


Figure 41 : Variation du nombre moyen des fruits chutés en fonction des arbres.

L'analyse statistique de la variance montre qu'il existe une différence significative en fonction des arbres avec $F_{obs} = 4,65$ pour $P = 0,000$.

Comme pour les piqures, l'arbre a un impact important sur le nombre de fruits chutés.

Source	SC	CM	F	P
Orientation	328,00	11,31	4,65	0,000

1.2.3. Effet de la date :

Les fruits chutés varient d'une manière hautement significativement en fonction de la date d'observation. Avec $F_{obs} = 10,81$ pour $p = 0,000$

Source	SC	CM	F	P
Date	515,8	171,9	10,81	0,000

La cinétique des fruits chutéés présente un seul pic pour la date 1(15/11/2013) et diminue jusqu'à atteindre le minimum pour la date 4 (25/12/2013) (**figure 42**).

Fruits chutés

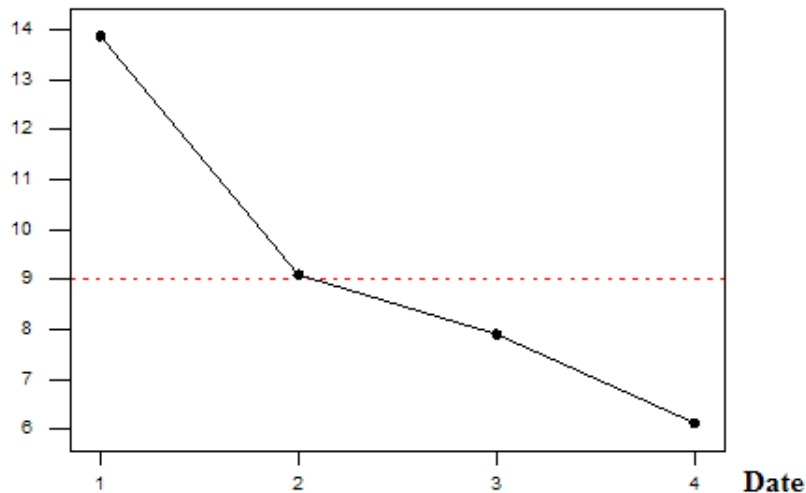


Figure 42: Cinétique des fruits chutés selon la date

Les cinétiques d'infestation montrent un seul pic bien net à la première date (15/11/2013), ce qui indique la présence d'une nouvelle génération dans le verger d'agrumes étudié, et qui diminue 30 à 35 jours après, ce qui correspond au développement total de la cératite dans notre région.

1.3. Relation entre les variables liées à l'infestation de l'oranger par *C. capitata*

La relation entre les caractères liés à l'infestation de l'oranger par *C. capitata* est analysée par la recherche de corrélations linéaires pour notre station d'étude.

L'étude de ces corrélations linéaires montre qu'il n'existe pas une relation significative entre les arbres et le nombre de piqures ; et entre les fruits chutés et les piqures ; ce qui est confirmé par les droites de régression linéaire avec $R^2 = 21 \%$ et $R^2 = 1\%$ respectivement, où les points sont dispersés autour de la droite de régression avec $R^2 < 1$ (Fig.43, 44).

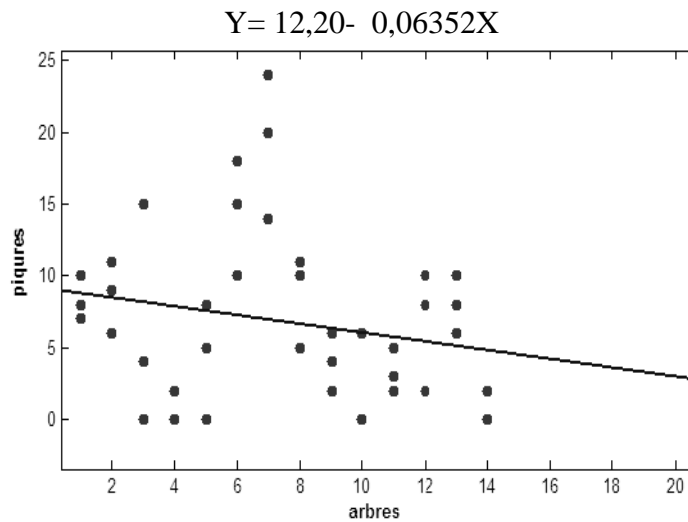


Figure 43 : Courbe de régression relative à la relation des piqûres et des arbres avec $R^2=21\%$

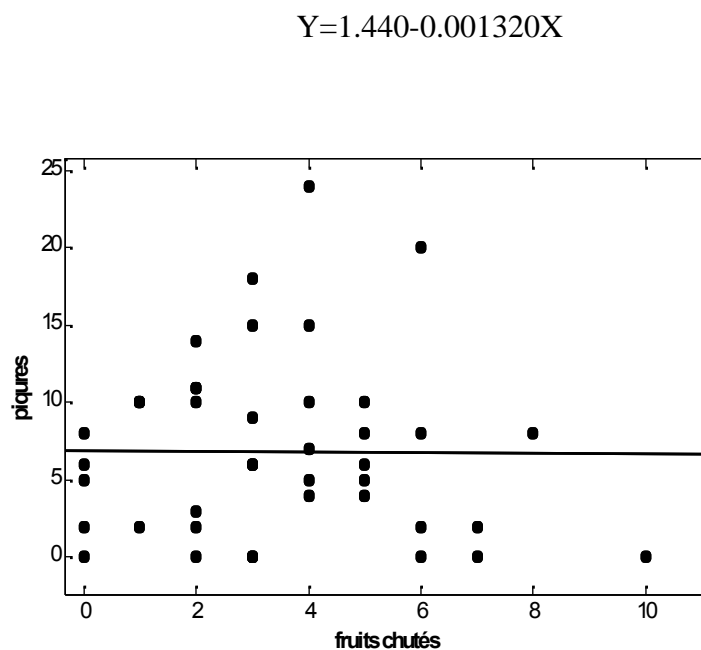


Figure 44 : Courbe de régression relative à la relation des piqûres et les fruits chutés avec $R^2=1\%$

1.4. Biologie des populations de *Ceratitis capitata* à partir des élevages menés au laboratoire.

Les élevages effectués ont pour but la connaissance du cycle biologique de la cératite, les taux de mortalité de ses différents stades, pour estimer sa longévité et son degré de parasitisme aux conditions de laboratoire ; mais comme nous l'avons signalé

précédemment, ils ont été infructueux probablement à cause des températures exceptionnellement froides à cette période. En effet, les conditions climatiques défavorables ont dû inhiber ou bien arrêter le développement de la mouche.

En effet, comme chez tous les Tephritidae, la biologie de *Ceratitis capitata* dépend entièrement du bioclimat dans lequel l'insecte se développe, dont particulièrement les températures et l'hygrométrie.

2. Etude mycologique

L'impact des moisissures sur la qualité des oranges étant de mieux en mieux perçu, le besoin de mieux les connaître conduit à élaborer des méthodes permettant de déterminer la nature des microorganismes présents.

Nous avons trouvé une biodiversité fongique importante qui a révélé, après les analyses effectuées sur les oranges prélevées, huit genres différents : *Alternaria sp.*, *Aspergillus niger*, *Monilia sp.*, *Aspergillus sp.* et quatre genres de *Penicillium sp.*

Pour identifier ces genres, nous avons étudié les caractères macroscopiques et microscopiques de ces derniers (**Tableau 08**).

Tableau 08 : Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés.

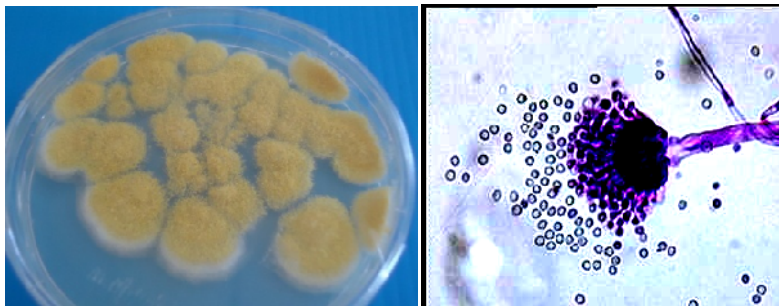
Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Genre
Thalle jaune ; Les colonies ont une croissance moyennement rapide ; La texture du thalle est cotonneuse ; Le revers de la boîte est noir.	Les conidiophores sont jaunes ; Le mycélium est cloisonné ; Les hyphes sont septés.	<i>Aspergillus</i>
Thalle noir ; La surface des colonies présente des zones blanches constituant des hyphes et des zones sombres ; le revers de la boîte est brun.	Les conidiophores sont bruns et simples ; Les conidies présentent des cloisonnements transversaux et longitudinaux.	<i>Alternaria</i>
Les colonies ont une croissance rapide ; avec une couleur blanche cotonneuse au départ, devenant poudreuse avec l'apparition de spores noires ; Le revers de la boîte est jaune pâle.	Les hyphes sont cloisonnés ; Les conidies sont brunes à noires et globuleuses ; Les conidiophores sont longs forment à l'apex une vésicule globuleuse ;	<i>Aspergillus niger</i>
Thalle vert ; Les colonies poussent rapidement avec une couleur verte ;	Les conidiophores sont ramifiés et disposés en longue chaîne ; Le mycélium est ramifié ;	<i>Penicillium sp.</i>

La texture est cotonneuse.	Les hyphes sont cloisonnés.	
Les colonies ont une croissance rapide.	Le mycélium est cloisonné ; Les conidiophores sont de couleur grise.	<i>Monilia</i>

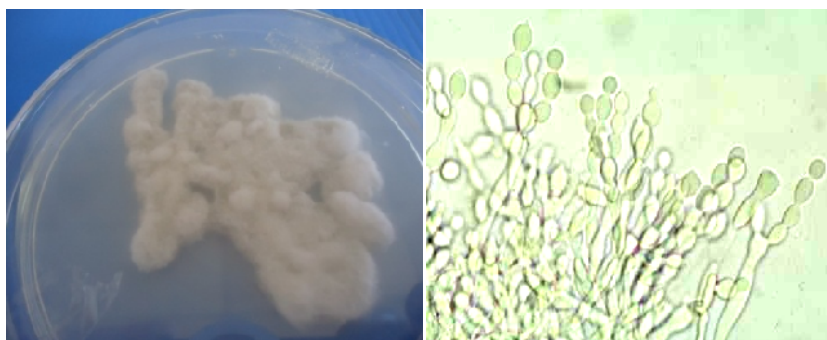
Les figures 45 à 52 montrent les aspects macroscopiques et microscopiques des différentes souches mycologiques que nous avons isolées à partir des oranges saines et infectées prélevées du verger étudié:



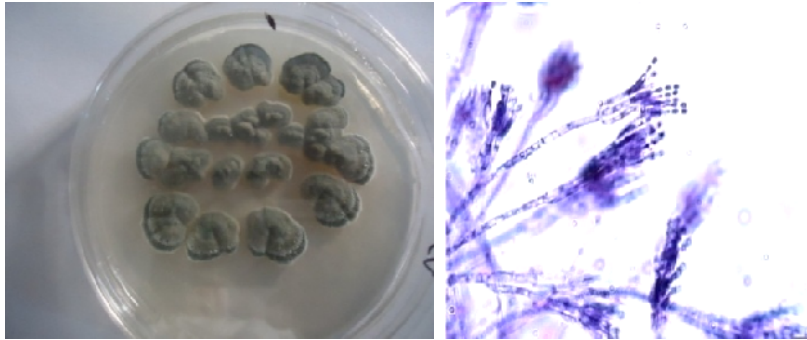
Figures 45: Aspects macroscopique et microscopique d'*Alternaria sp.*



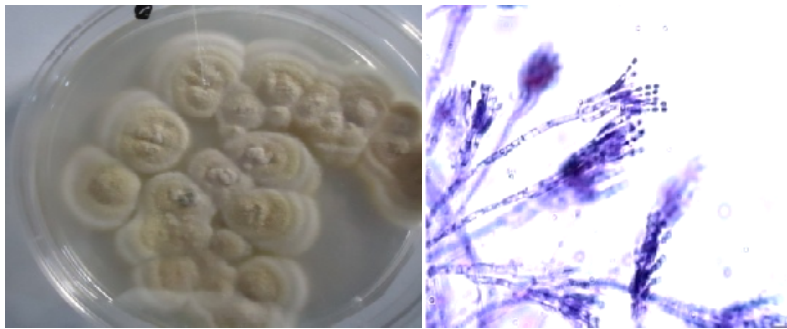
Figures 46 : Aspects macroscopique et microscopique d'*Aspergillus sp.*



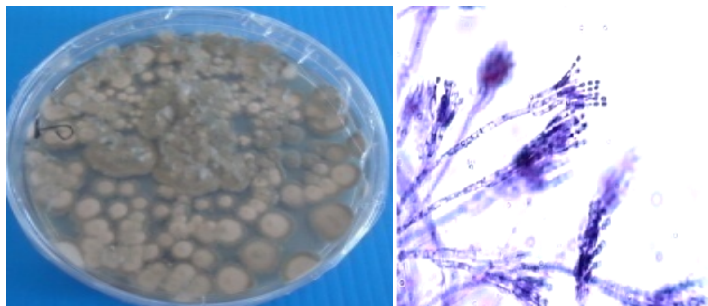
Figures 47 : Aspects macroscopique et microscopique de *Monilia sp.*



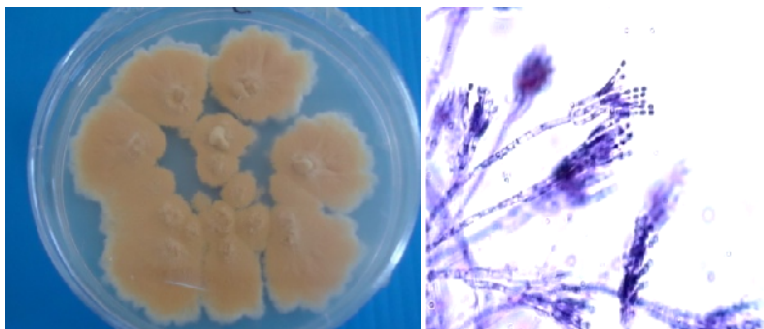
Figures 48 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp1*.



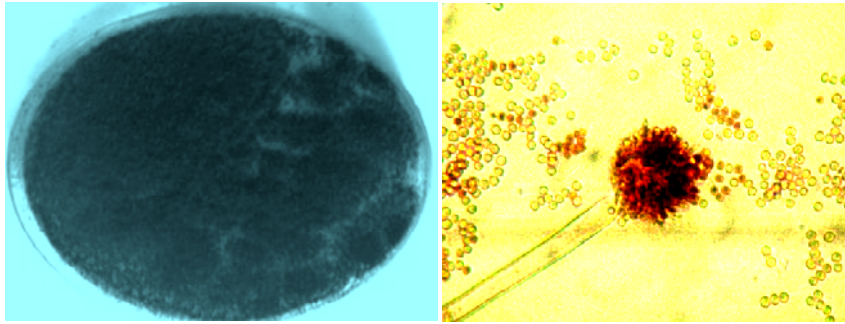
Figures 49 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp2*.



Figures 50 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp3*.



Figures 51 : Aspects macroscopique et microscopique de *Penicillium sp4*.



Figures 52 : Aspects macroscopique et microscopique d'*Aspergillus niger*

Tableau 09: pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées.

Genre	Oranges saines %	Oranges infectées %
<i>Alternaria sp.</i>	25	27
<i>Aspergillus sp.</i>	0	5
<i>Monilia sp.</i>	0	2
<i>Penicillium sp1</i>	37	40.5
<i>Penicillium sp2</i>	20	10.5
<i>Penicillium sp3</i>	10	2.5
<i>Penicillium sp4</i>	0	3
<i>Aspergillus niger</i>	8	9,5

Les différents genres obtenus dans les échantillons d'oranger sont représentés dans la figure suivante :

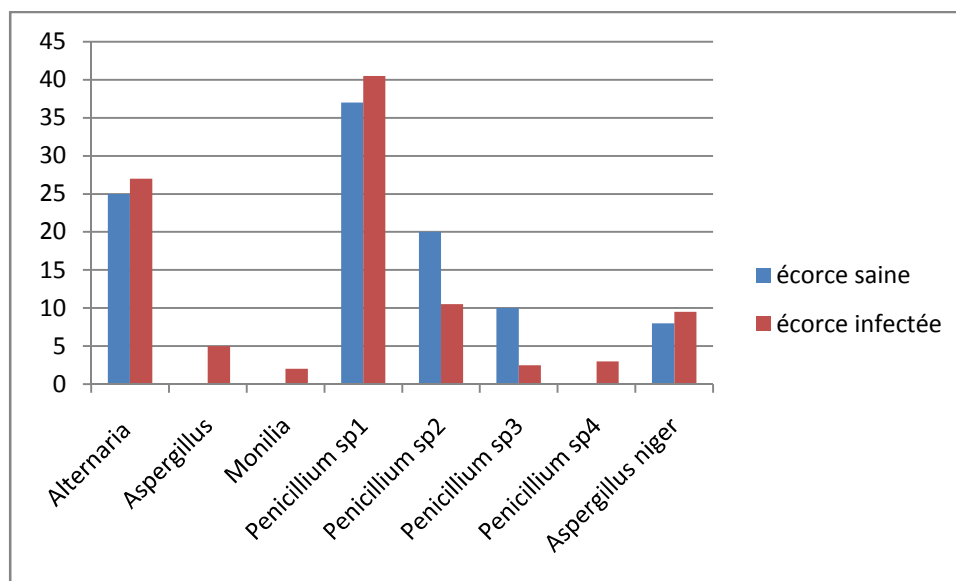


Figure 53 : Pourcentages des champignons dans les oranges saines et infectées

Les analyses mycologiques des prélèvements ont montré la dominance de trois genres : *Penicillium sp1*, *Alternaria sp.* et *Penicillium sp2*. Notons également l'apparition de nouveaux genres pour les échantillons infectés : *Aspergillus sp.*, *Monilia sp.* et *Penicillium sp4* (**Fig. 53**).

3. Etude phytochimique :

Le but de notre étude est l'identification et la détermination des taux de quelques polyphénols synthétisés par l'oranger lors de son agression par *Ceratitits capitata* et les microorganismes tels que les champignons, par une comparaison entre les fruits sains et infectés, afin de savoir si l'oranger utilise son pouvoir allélopathique pour se défendre contre ses bioagresseurs.

3.1. Teneur en eau :

La teneur en eau au niveau de l'écorce d'oranger est de 6,95 , par conséquent le taux de matière sèche est de 26,9 . Selon **Kechaou (2010)**, la teneur en eau chez l'écorce d'oranger est de 7,48 avec un taux de matière sèche de 29,7 (**Fig.54**).

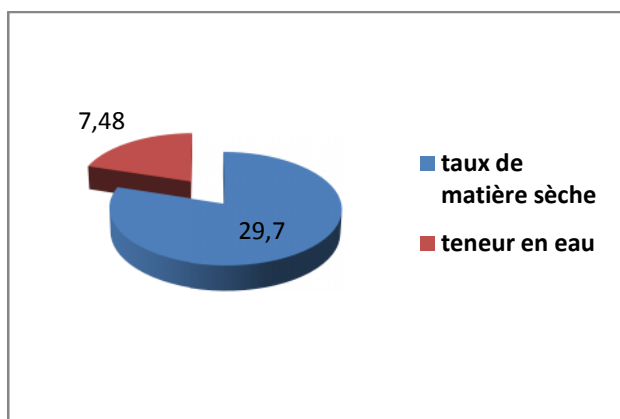


Figure 54 : taux de la matière sèche de l'écorce d'orange

3.2. Tests phytochimiques :

Ces tests permettent de vérifier la présence ou l'absence des composés chimiques tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes...

Nous avons testé la présence des flavonoïdes, tanins, quinones, terpénoïdes et alcaloïdes présents dans l'orange (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'écorce d'orange.

Famille des composés	Epuisement par l'eau chaude	Epuisement par l'éthanol	Epuisement par l'éther di éthylique
Alcaloïdes	-	-	-
Flavonoïdes		+++	
Tanins	++	++	
Saponosides	-		
Quinones			-

- : Test négatif.

+ : Test faiblement positif

++ : Test positif

+++ : Test fortement positif.

D'après les tests réalisés, nous remarquons que les flavonoïdes, les tanins, et les huiles essentielles sont présents en grandes quantités dans l'écorce des oranges prélevées.

Par contre, les alcaloïdes, les saponosides et les quinones sont totalement absents de nos échantillons.

Les flavonoïdes et les tanins étant largement représentés dans l'oranger, nous décidons d'en effectuer les dosages et de déterminer leurs rendements dans notre matériel biologique. En effet, la comparaison des teneurs de ces substances phénoliques chez l'écorce des fruits sains et celle des fruits infectés permet de savoir s'il existe un pouvoir allélopathique chez l'oranger.

3.3. Rendement massique :

La **figure 54** représente les rendements massiques des flavonoïdes et des tanins dans les écorces des oranges saines et infectées.

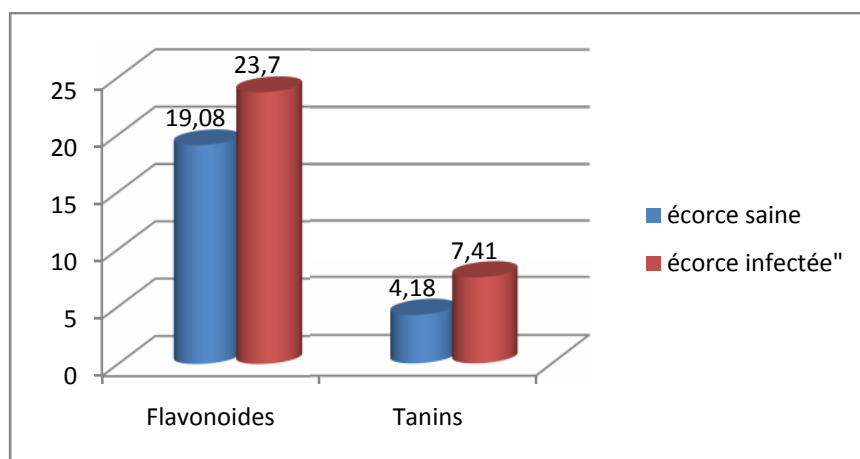


Figure 55: Rendements massiques des flavonoïdes et des tanins.

D'après la **figure 55**, nous relevons un rendement plus élevé au niveau des teneurs en flavonoïdes concernant les oranges infectées (23,70%) par rapport aux oranges saines (19,08%), même constat pour les tanins avec 7,41% pour les infectées et 4,18% pour les saines.

3.4. Dosage des phénols totaux :

Pour avoir une idée globale sur la quantité des polyphénols chez l'oranger (écorce d'orange), nous avons effectué le dosage des phénols totaux, ce qui permet ensuite

d'effectuer le dosage des flavonoïdes et des tanins pour une comparaison entre les fruits sains et les fruits infectés.

Les teneurs en phénols totaux chez les écorces saines et infectées sont illustrées dans la **figure 56**.

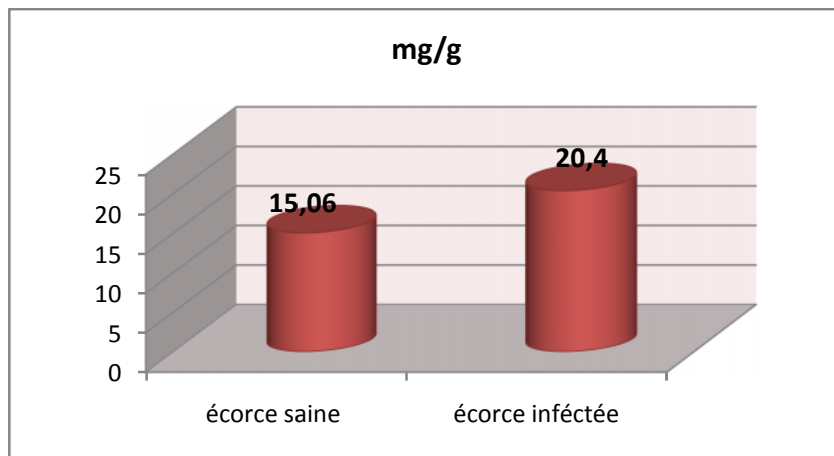


Figure 56: Teneurs en phénols totaux dans l'écorce saine et infectée des oranges.

A partir de cette figure, on remarque que les teneurs en phénols totaux des fruits infectés (20,4mg/g) sont supérieures à celles des fruits sains (15,06mg/g).

3.5. Dosage des flavonoïdes :

La **figure 56** montre que le taux des flavonoïdes chez les écorces infectées (120,7mg/g) est deux fois plus élevé par rapport à celui des écorces saines (65mg/g).

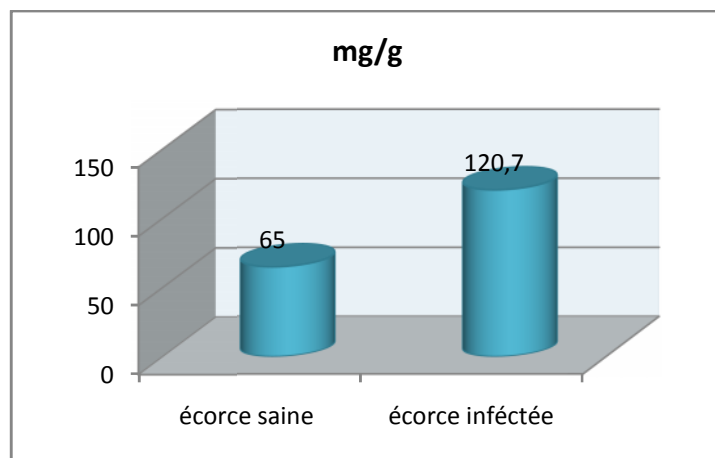


Figure 57 : Teneurs en flavonoïdes des écorces saines et infectées des oranges.

3.6. Dosage des tanins :

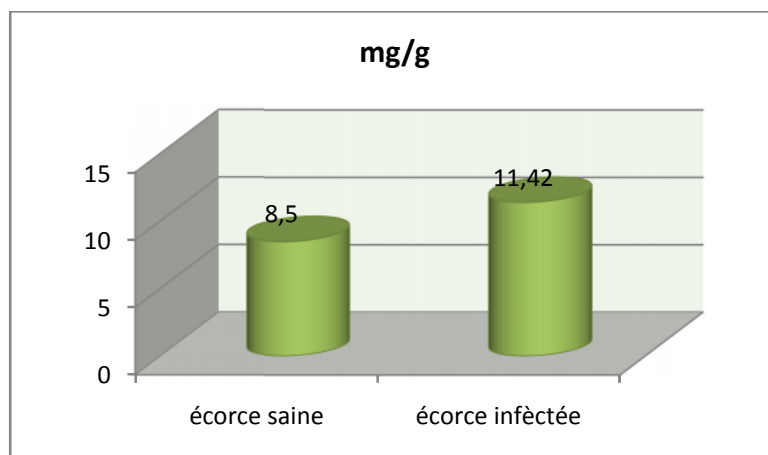


Figure 58 : Teneurs en tanins des écorces saines et infectées des oranges.

D'après la **figure 58**, le taux des tanins chez les oranges infectées (11,8mg/g) est élevé par rapport à celui des oranges saines (8,26mg/g).

L'ensemble des résultats obtenus par les différents dosages effectués montre que les teneurs en composés phénoliques augmentent quand les oranges sont infestées, ce qui prouve que l'oranger se défend chimiquement quand il est attaqué, en sécrétant des substances phénoliques, confirmant ainsi son pouvoir allélopathique.

3.7. Chromatographie sur couche mince (C.C.M)

La chromatographie sur couche mince nous permet d'identifier les différents groupes des composés phénoliques qui ont un rôle dans la défense contre les agressions de l'oranger (**Fig. 59**).

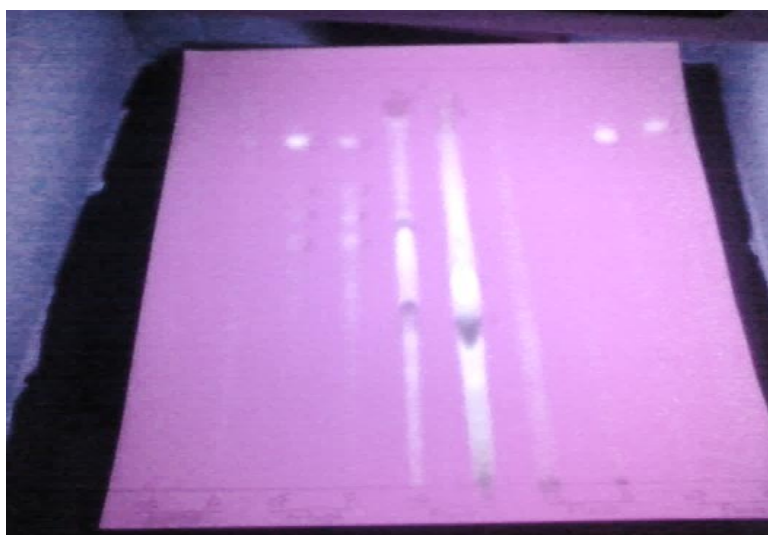


Figure 59 : Photo de la plaque C.C.M pour l'identification des flavonoïdes chez l'orange.

Le tableau 11 présente les groupes identifiés des flavonoïdes avec leurs couleurs et leurs Rf.

Tableau 11 : Résultats de C.C.M pour les extraits des flavonoïdes chez l'orange.

Rf(cm)	Couleur sous UV 365 nm	Type flavonoïde possible (Markham, 1982)
0,51	Violet	Flavones
0,56	Bleu	Acides phénols
0,65	Marron	Phénol simple
0,76	Vert (extrait AcOEt)	

3.8. Rendement des oranges en huiles essentielles :

L'hydrodistillation réalisée sur les zests d'oranges nous donne un rendement en huile essentielle (H. Es.) extraite de 0,72%.

Jeannot *et al.* (2005) et Fuselli *et al.* (2008) ont observé des rendements allant de 0,25 à 0,57% pour l'H.Es de *Citrus aurantium* ; 0,6 à 0,8% pour les H.Es de *C. sinensis* et 0,7 à 0,9 % pour les H.Es de *C. limonum*.

4. Activité insecticide des composés phénoliques extraits:

4.1. Activité insecticide des flavonoïdes extraits à l'acétate d'éthyle (AET) vis-à-vis des adultes de *Ceratitis capitata* :

L'extrait de l'acétate d'éthyle a un effet insecticide plus important sur les adultes de la cératite puisque avec une dose minimale de 5µl/L, nous obtenons un pourcentage de mortalité de 50 en moyenne, et 80 à la dose de 7µl/L.

Aux doses de 8µl/L et 12µl/L nous constatons un taux de mortalité de 100 % pour les trois essais.

Les résultats montrent clairement que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles ou pratiquement nuls. Le tableau 12 suivant illustre les pourcentages de mortalité des populations au stade adulte en appliquant la phase d'acétate d'éthyle sur *Ceratitis capitata* à différentes doses.

Tableau 12: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase acétate d'éthyle des flavonoïdes après 72h.

Groupe N°	Concentration $\mu\text{l/L}$	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	40	50
5	5	30	
6	5	80	
7	7	90	80
8	7	60	
9	7	90	
10	8	100	100
11	8	100	
12	8	100	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Nous avons procédé à une étude statistique comportant une analyse de variance à un facteur (ANOVA 1), à deux facteurs (ANOVA 2) suivi par le test de Tukey, appliqué à l'ensemble des couples de différences possibles.

L'ANOVA 1 est appliquée pour tester l'homogénéité des moyennes de mortalité, en fonction des différentes concentrations dans la phase acétate d'éthyle.

$F_{\text{obs}} = 17.60$ pour $p = 0.007$, il existe donc une différence statistiquement significative entre les moyennes de mortalité d'un niveau de concentration à l'autre au niveau de confiance de 95.0%.

Le test de de Tukey dégage les groupes non homogènes selon le gradient suivant : le groupe 3, 4, 8 et 9 (Annexes).

Dans cette partie, plusieurs facteurs sont pris en considération comme le temps après traitement (72h), les molécules utilisées et les différentes doses appliquées.

4.2. Activité insecticide des flavonoïdes extraits par le nbutanol (nbut) vis-à-vis des adultes de *Ceratitis capitata* :

L'extrait au nbutanol est moins actif sur les adultes de *C. capitata* que celui de la phase acétate d'éthyle. A la dose de $5\mu\text{l/L}$, on a un pourcentage de mortalité de 40 en

moyenne, alors qu'aux doses de 7 μ l/L et 8 μ l/L, le taux de mortalité est plus faible que celui de la phase précédente avec des moyennes de 46,66% et 63,33% respectivement.

A la concentration de 12 μ l/L, le taux de mortalité est de 100 % pour les trois essais (**Tableau 13**).

Les résultats montrent clairement que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles, semblables à ceux de la phase Acétate d'éthyle avec une mortalité de 10% en moyenne.

Tableau 13: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations de la phase nbutanol après 72h

Groupe N°	Concentration μ l/L	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	30	40
5	5	40	
6	5	50	
7	7	60	46,6
8	7	50	
9	7	30	
10	8	80	63,3
11	8	70	
12	8	40	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Pour cette phase nbutanol, l'ANOVA 1 démontre qu'il y a une différence significative du taux de mortalité entre les différentes concentrations avec $F_{obs}=18,54$ pour $p=0.0011$.

Le classement selon le test de Tukey illustre les groupes 5, 3, 7, 4 et 8 par ordre croissant comme dissemblants (Annexes).

4.3. Activité insecticide des tanins sur les adultes de *Ceratitis capitata* :

L'effet biocide de l'extrait tannique sur les adultes de *C. capitata* est proche de l'effet de la phase nbutanol puisque avec la dose minimale de 5 μ l/L, le pourcentage de mortalité est de 40% en moyenne, et de 43,3 à la dose 7 μ l/L ; alors qu'à la dose de 8 μ l/L le taux de mortalité est de 60% en moyenne (**Tableau 14**).

Nous avons également testé les tanins à une concentration de 12 μ l/L, nous avons obtenu un taux de mortalité de 100 % pour les trois essais.

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des témoins sont très faibles, semblables à ceux des deux phases précédentes, avec une mortalité moyenne de 10%.

Tableau 14: taux de mortalité des adultes à différentes concentrations des tanins après 72h

Groupe N°	Concentration $\mu\text{l/L}$	Mortalité %	Moyenne%
1	0	20	10
2	0	10	
3	0	0	
4	5	50	40
5	5	30	
6	5	40	
7	7	40	43,3
8	7	50	
9	7	40	
10	8	60	60
11	8	80	
12	8	40	
13	12	100	100
14	12	100	
15	12	100	

Pour les tanins, l'ANOVA 1 montre que la différence des mortalités entre les concentrations est hautement significative puisque $F_{\text{obs}} = 17.00$ pour $p = 0.0007$.

L'ANOVA 2 montre qu'il y a une différence significative entre les différents extraits utilisés puisque $F_{\text{obs}} = 8,44$ avec un p calculé égale à 0.007.

La différence est hautement significative entre les concentrations avec $F_{\text{obs}} = 23.35$ pour $p = 0.0000$.

4.4. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L1 de *C. capitata* :

L'effet biocide de l'extrait des flavonoïdes à l'acétate d'éthyle sur les larves au stade L1 de *Ceratitis capitata* est actif dès la dose minimale de $2\mu\text{l/L}$ avec une mortalité de 20% ; un pourcentage de mortalité de 40% en moyenne est relevé à la dose de $4\mu\text{l/L}$, alors qu'à une dose de $8\mu\text{l/L}$, le taux de mortalité est très important avec une moyenne de 66,6% (Tableau 15).

Pour la phase nbutanol des flavonoïdes et les tanins, nous notons des moyennes de mortalité très proches des précédentes donc leurs effets biocides sont pratiquement les mêmes à des doses équivalentes. Pour les tanins, on atteint une moyenne de mortalité de

56,6 % avec la dose maximale de 8 μ l contre une moyenne de mortalité de 60% pour la phase nbutanol (**Tableau15**).

Les taux de mortalité des témoins sont nuls pour les deux phases (Acétate d'éthyle et le nbutanol) des flavonoïdes ainsi que pour les tanins.

Tableau15 : taux de mortalité des stades L1 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.

Concentration μ l	Acétate d'éthyle		nbutanol		Tanins	
	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %
0 μ l	0	0	0	0	0	0
0 μ l	0		0		0	
0 μ l	0		0		0	
2 μ l	20	6,6	10	16,66	30	16,6
2 μ l	0		30		20	
2 μ l	0		10		0	
3 μ l	40	26,6	50	33,3	30	16,6
3 μ l	20		30		10	
3 μ l	20		20		10	
4 μ l	50	40	60	46,6	50	33,3
4 μ l	30		30		30	
4 μ l	40		50		20	
8 μ l	80	66,6	70	60	70	56,6
8 μ l	60		60		40	
8 μ l	60		50		60	

Le tableau précédent montre que c'est la dose de 8 μ l qui permet d'obtenir un taux de mortalité important des larves L1 de *Ceratitis capitata*, dépassant les 50%, à l'aide de ces composés phénoliques.

Le composé phénolique ayant la meilleure activité biocide contre les stades L1, avec la moindre dose, reste la phase nbutanol, suivie de la phase acétate d'éthyle, le moins actif étant l'extrait des tanins.

Les tests statistiques montrent qu'il n'existe pas de différence significative quant à l'efficacité des extraits phénoliques testés avec $F_{obs} = 0.38$ pour $p = 0.5399$ alors que les concentrations utilisées ont un impact significatif sur les taux de mortalité avec $F_{obs} = 11.95$ pour $p = 0.0000$.

4.5. Activité insecticide des flavonoïdes et des tanins vis-à-vis des larves au stade L2 de *Ceratitis capitata*

L'effet des flavonoïdes et des tanins sur les larves au stade L2 de *C. capitata* est actif à partir de la dose minimale de 4µl/L avec un pourcentage de mortalité de 40% en moyenne, (Tableau 16).

Alors qu'à la dose de 8µl/L, le taux de mortalité est important avec une moyenne de 60% pour l'extrait d'acétate d'éthyle et nbutanol et 50 pour les tanins.

Les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls pour les deux phases (Acétate d'éthyle et le nbutanol) ainsi que pour les tanins.

Tableau 16: taux de mortalité des stades L2 pour les différentes concentrations de tous les extraits phénoliques.

Concentration µl	Acétate d'éthyle		nbutanol		Tanins	
	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %	Mortalité %	Moyenne %
0µl	0	0	0	0	0	0
0µl	0		0		0	
0µl	0		0		0	
2µl	0	10	10	13,3	30	16,6
2µl	20		20		0	
2µl	10		10		20	
3µl	10	13,3	40	23,3	30	23,3
3µl	30		20		10	
3µl	0		10		30	
4µl	20	40	30	40	60	40
4µl	60		40		10	
4µl	40		50		50	
8µl	40	60	40	60	30	50
8µl	70		60		80	
8 µl	70		80		40	

À la dose de 8µl/L, les taux de mortalité sont plutôt importants, de l'ordre de 60% pour les bio-essais aux phases Acétate d'éthyle et nbutanol.

Pour les tanins, on remarque que les taux de mortalité sont de 50% en moyenne (Tableau 16).

L'Anova 2 montre qu'il n'existe pas de différence significative quant à l'efficacité des extraits phénoliques testés avec $F_{obs} = 0.00$ pour $p = 1.0000$ alors que les concentrations utilisées ont un impact significatif sur les taux de mortalité ($F_{obs} = 10.00$ pour $p = 0.0000$).

Donc l'effet biocide de ces molécules au niveau des deux phases ainsi que les tanins, est pratiquement équivalent à toutes les doses, donc pour avoir une bonne activité biocide, il faut une concentration suffisante (8 μ l ou plus) de l'un des trois extraits testés.

L'étude statistique montre qu'il n'y a pas d'effet de la variation des extraits sur la mortalité des larves aux stades 1 et 2 puisque $p = 0.5399$ pour L1 et 1.0000 pour L2, par contre l'effet des concentrations est prouvé avec $p = 0.0000$ (Annexes).

Le test de Tukey montre clairement les groupes non homogènes (Annexes).

4.6. Effet insecticide des huiles essentielles de l'oranger sur les adultes de la cératite

Nous avons testé la toxicité de l'huile essentielle de l'écorce d'orange sur les adultes de *C. capitata* avec quatre doses différentes (0,8 μ l, 1 μ l, 2 μ l et 5 μ l), la mortalité devient de plus en plus importante en élevant la dose. Nous avons enregistré une mortalité de 30 en moyenne à la dose de 1 μ l/L et de 73,3 à la dose 2 μ l/L. Cependant la dose 5 μ l/L semble être la plus efficace puisque nous obtenons une mortalité de 100 des mouches de *C. capitata* après 24h d'exposition (**Tableau 17**).

Dans les lots témoins la mortalité moyenne est nulle.

Tableau 17 : taux de mortalité des adultes de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle.

Groupe N°	Concentration μ l/L	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	0	0
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	50	30
8	1	20	
9	1	20	
10	2	70	73.3
11	2	70	
12	2	80	
13	5	100	100
14	5	100	
15	5	100	

L'Anova 1 montre qu'il existe une différence significative des taux de mortalité entre les différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange avec $F_{obs}=34,20$ pour $p= 0.00$.

Le classement selon le test de Tukey illustre les groupes 5, 8, et 7 comme non homogènes.

4.7. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L1 :

L'effet biocide de l'huile essentielle sur les larves de stade 1 de *C. capitata* est très faible aux doses de 0,8 μ l, 1 μ l et 2 μ L avec un taux de mortalité de 3,3 , 10 et 16,6 en moyenne respectivement. A partir de la dose de 5 μ l/L, l'effet de l'huile essentielle est actif avec un pourcentage de mortalité de 50% en moyenne.

Les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls.

Tableau 18 : taux de mortalité des larves L1 de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.

Groupe N°	Concentration μ /L	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	10	3.3
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	10	10
8	1	20	
9	1	0	
10	2	20	16.6
11	2	10	
12	2	20	
13	5	50	50
14	5	40	
15	5	60	

Les analyses statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les différentes concentrations de l'huile essentielle avec $F_{obs}= 7.20$ pour $p = 0.0057$.

4.8. Effet larvicide de l'huile essentielle de l'orange sur les larves L2

Les tests de toxicité de l'huile essentielle sur les larves de stade L2 de la cératite sont actifs dès la dose 2µl/L avec un taux de mortalité de 23,33 en moyenne. On a un pourcentage important de mortalité de 63,33 en moyenne à la dose de 5µl/L (**Tableau 19**).

Les résultats montrent que les pourcentages de mortalité des témoins sont nuls.

Tableau 19: taux de mortalité des larves L2 de *C. capitata* aux différentes concentrations de l'huile essentielle de l'orange.

Groupe N°	Concentration µl/L	Mortalité %	Moyenne%
1	0	0	0
2	0	0	
3	0	0	
4	0.8	0	0
5	0.8	0	
6	0.8	0	
7	1	20	10
8	1	10	
9	1	0	
10	2	20	23.33
11	2	20	
12	2	30	
13	5	50	63.33
14	5	70	
15	5	70	

Pour les larves de stade L2, l'anova1 montre que la différence des mortalités entre les concentrations d'huile essentielle est validé puisque $F_{obs} = 11.39$ pour $p = 0.0011$.

Le test de Tukey a dégagé les groupes non homogènes selon le gradient suivant : les groupes 1 et 3 (Annexes).

4.9. Concentrations létales 50 ou DL50:

Nous avons calculé les concentrations létales à l'aide de logiciel **Polo plus** pour connaître les concentrations qui déterminent une mortalité de 50 pour la population de *C. capitata*, pour chaque extrait testé.

Le tableau suivant présente les concentrations létales 50 pour chaque extrait :

Tableau 20 : Résultats de DL50 (μ l) pour chaque extrait.

	DL50 (μ l)	
	Adultes	Larves
Extrait Acétate d'éthyle	4,252	4,822
Extrait Nbutanol	5,203	4,614
Extrait de Tanins	6,586	5,246
Huile essentielle	1,348	4,534

Le tableau précédent nous permet de conclure que c'est l'extrait Acétate d'éthyle des flavonoïdes qui a l'effet biocide le plus important parmi les composés phénoliques testés, mais pour l'ensemble des extraits testés, c'est l'huile essentielle de l'écorce d'orange qui est la plus efficace puisqu'elle est active aux plus faibles doses, notamment pour les adultes de *C. capitata*.

5. Activité antifongique :

Les extraits phénoliques et l'huile essentielle extraits des oranges prélevées de notre verger étudié sont testés sur les champignons isolés et identifiés pour connaître leurs effets biologiques sur ces espèces pathogènes.

Les tableaux **21**, **22** et **23** montrent les résultats de l'activité antifongique de ces extraits et H.Es d'orange.

Tableau 21 : Effet des extraits tanniques sur la croissance mycélienne (% d'inhibition).

Concentration (μ l/20ml PDA)	<i>Alternariasp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Monila</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Penicillium sp3</i>	<i>Penicillium sp4</i>
4	20	44,44	50	42,5	50	14,28	53,84	6,25
8	50	55,55	56,23	67,5	66,66	50	69,23	56,25
16	70	61,11	68,75	70	73,33	71,42	76,72	75

Les pourcentages d'inhibition de l'extrait des tanins sur les différentes souches fongiques isolées sont présentés dans la **figure 60** suivante :

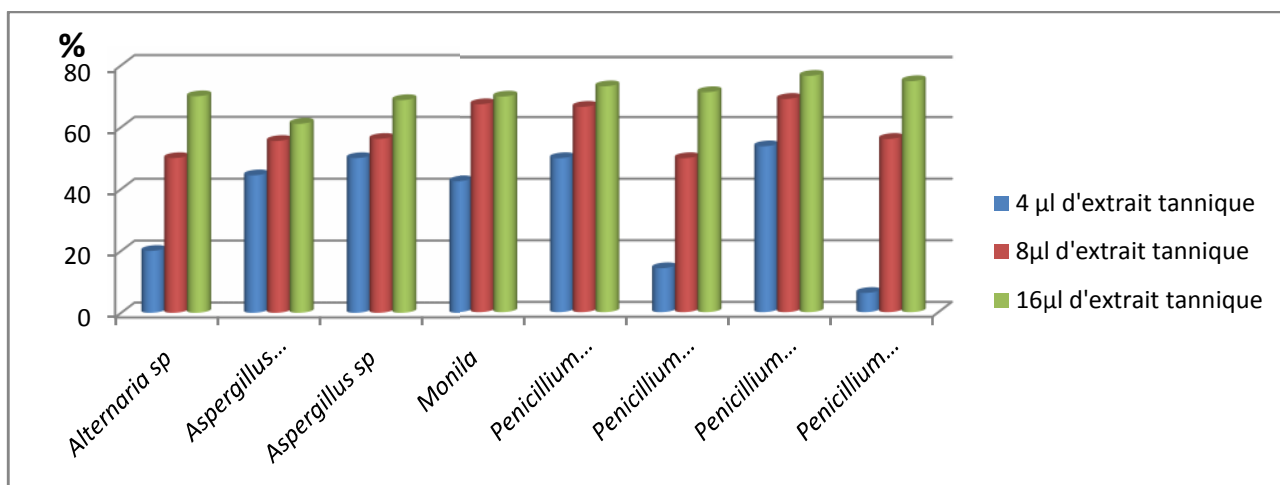


Figure 60: pourcentages d’inhibition des extraits tanniques d’orange sur les différentes souches fongiques.

Tableau 22 : Effet des extraits flavonoïques sur la croissance mycélienne (%d’inhibition).

	Concentration (µl/20mlPDA)	Alternaria sp	Aspergillus niger	Aspergillus sp	Monila	Penicillium sp1	Penicillium sp2	Penicillium sp3	Penicillium sp4
Extrait BuOH	4	10	33,33	62,5	50	16,66	17,14	38,46	37,5
	8	60	55,55	65	77,5	50	78,57	46,15	72,5
	16	60	73,33	75	82,5	60	78,57	69,23	70
Extrait AcOEt	4	0	44,44	62,5	25	33,33	25,71	53,84	0
	8	40	61,11	62,5	75	60	71,42	72,30	62,5
	16	60	72,22	75	80	66,66	80	76,92	72,5

Les résultats de l’effet antifongique par contact direct des différentes souches de champignons isolées et identifiées montrent que la croissance mycélienne est impactée par l’augmentation des concentrations des extraits phénoliques de l’orange. Pour l’extrait acétate d’éthyle, nous remarquons que *Alternaria* et *Penicillium sp4* sont résistantes à la dose de 4µl.

En ce qui concerne les extraits flavonoïques, les résultats montrent une activité et de bons effets inhibiteurs avec les concentrations de 8 µl et 16 µl, la réponse pour chaque champignon testé est différente.

Tableau 23 : Effets des huiles essentielles d’orange sur la croissance mycélienne (% d’inhibition).

Concentration (µl/20ml PDA)	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Monila</i>	<i>Penicillium sp1</i>	<i>Penicillium sp2</i>	<i>Penicillium sp3</i>	<i>Penicillium sp4</i>
10	48	66,66	56,25	62,5	50	68,57	75,38	43,75
16	60	72,22	62,5	75	60	71,42	80	73,75
20	70	75,55	65	80	66,66	72,85	84,61	76,25

Le **tableau23** montre que l’huile essentielle d’orange possède un bon effet antifongique aux différentes concentrations.

D’après la **figure 61**, on remarque que le pourcentage d’inhibition sur la croissance mycélienne augmente avec l’augmentation de la concentration en H.Es. et cela pour toutes les souches testées.

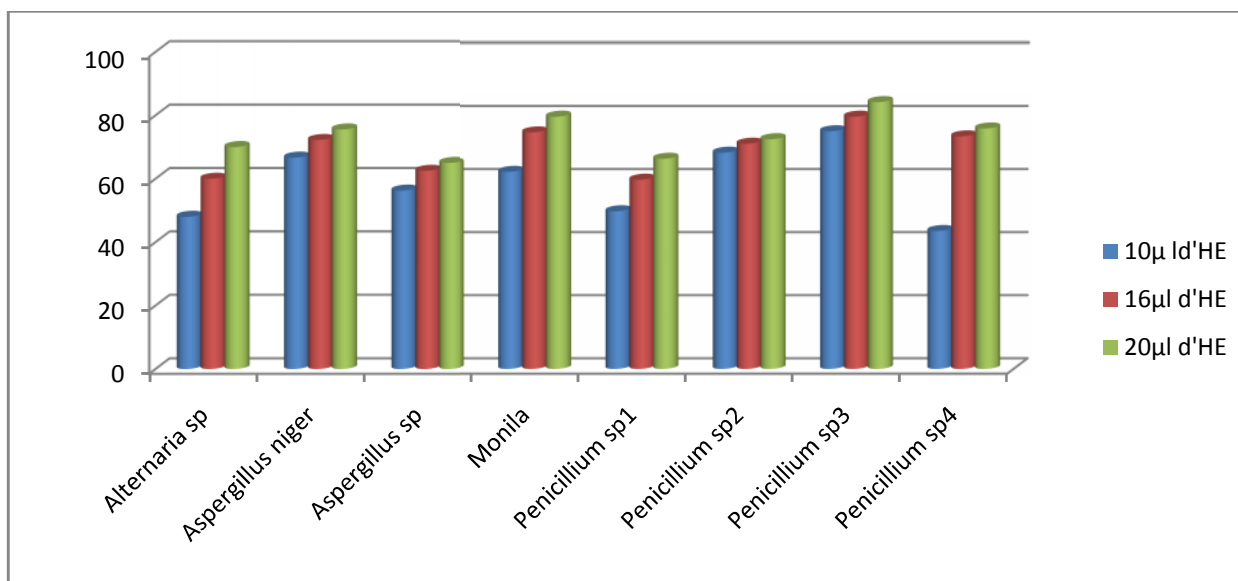
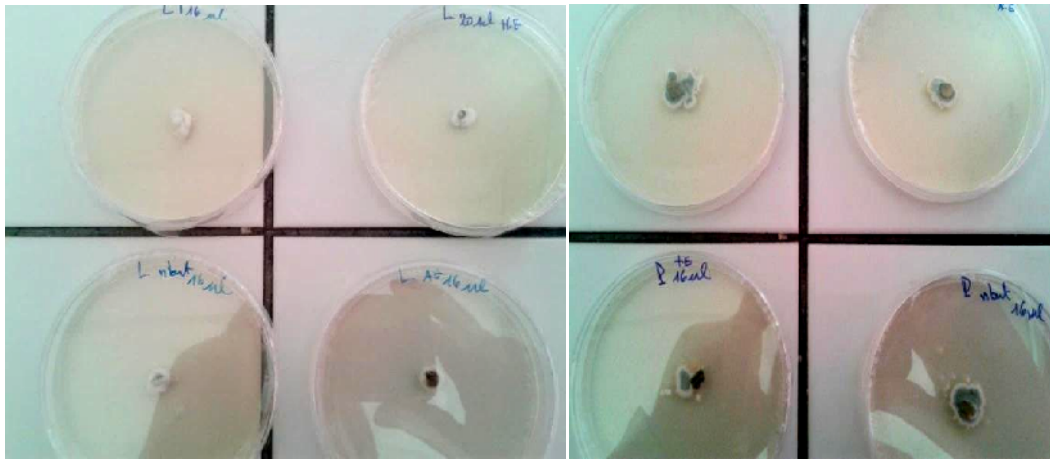


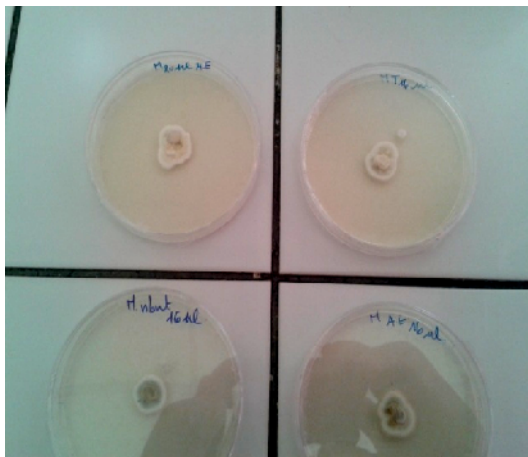
Figure 61: Pourcentages d’inhibition des différentes souches fongiques par l’huile essentielle d’orange.

Les photos ci-dessous montrent l’effet de l’huile essentielle et les extraits d’orange sur quelques souches isolées des oranges du verger étudié.



(A)

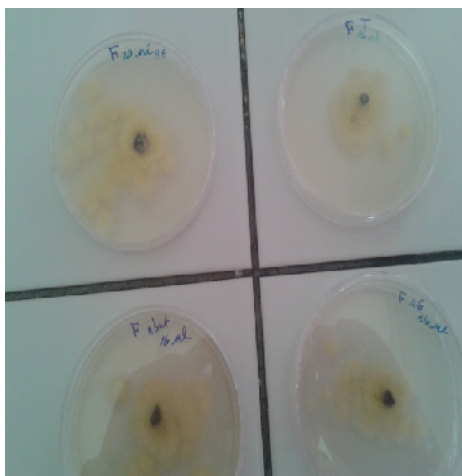
(B)



(C)



(D)



(E)

Figure 62 : Effets de l'huile essentielle et des extraits tanniques et flavonoïques de l'oranger sur **A**(*Monilia* sp), **B**(*Penicillium* sp1),**C**(*Penicillium* sp2), **D**(*Alternaria* sp) et **E**(*Aspergillus* sp).

Discussion

1. Etude entomologique

La cécidie se développe sur plusieurs espèces fruitières avec une très grande adaptation, ce qui n'empêche pas l'influence de différents facteurs écologiques sur sa biologie et sur la taille de sa population.

Pour notre travail, nous avons choisi la variété de l'oranger Thomson (Washington navel) puisque les fruits de cette variété sont les plus piqués. **Abdelli (1996); Smail et Keddouci (2000) et Dekhli (2006)** ont considéré la variété Thomson comme un hôte préférentiel de la cécidie. **Sampaio et al. (1984) et Quillici (1993)** ont signalé que l'attractivité exercée par la Thomson serait due à ses composés volatiles émis bien avant la maturation des fruits. Ces composés sont des stimuli olfactifs pour la cécidie.

Pour leur part, **Dhouibi et al. (1995)** ont montré que des paramètres chimiques tels que la teneur en huiles essentielles de l'écorce et la nature des substances volatiles pourraient jouer un rôle non négligeable dans l'attraction ou la répulsion du ravageur.

Ali Ahmed- Sadoudi (2007) a rapporté que la cécidie manifeste une préférence pour certaines variétés fruitières au sein de la même espèce, en rapport avec le degré de maturité des fruits.

Katsoyannos (1986), Katsoyannos et al. (1997) et Papadopoulos et al. (2001) ont constaté que les adultes de la cécidie sont attirés par les fruits volumineux. De même, **Papaj et Opp (1989)** ont signalé que le volume des fruits joue un rôle dans le taux d'infestation, ce qui peut justifier nos résultats sur la Thomson.

Nous nous sommes particulièrement intéressés à l'incidence de deux facteurs abiotiques qui sont l'orientation et la date d'observation et un seul facteur biotique qui est l'effet de l'arbre échantillonné sur les attaques de ce ravageur.

Les attaques de la cécidie sur les agrumes semblent être influencées par les facteurs que nous avons choisi de tester lors de ce présent travail ; que l'on considère les trous de ponte ou le nombre de fruits chutés, les résultats restent similaires.

- **Effet orientation :**

L'orientation des fruits dans un arbre semble avoir une légère influence sur les attaques de la cératite et sur les fruits chutés, même si les analyses statistiques n'ont pas révélé un effet significatif de ce facteur sur le degré d'infestation.

A partir des résultats obtenus (**fig.37**), nous constatons que le nord-est est l'exposition la plus piquée pour notre verger par rapport aux autres expositions cardinales.

Les fruits chutés semblent plus impactés par l'orientation comme le montrent les tests statistiques. Des résultats similaires ont été obtenus par **Naâmani et al. (1997)** qui signalent également que les fruits chutés sont la plupart à l'état vert ou mûrissant, ils sont plus du côté est en mai.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Salah (2011)** pour l'orange de Tlemcen, mais ne concordent pas avec ceux de **Sadoudi (2007)** qui a constaté que l'ouest est l'exposition la plus visitée par la cératite, ni avec ceux de **Metna (2009)** qui a montré que les expositions est, sud et centre sont celles qui présentent un taux de fruits piqués le plus élevé.

Contrairement à nos résultats, **Selka (2006)** indique que les parties sud et ouest présentent les fruits les plus piqués.

Selon le travail de **Bachi (2012)**, la partie centre est l'exposition la plus piquée par la cératite.

Chez un autre Tephritidae, la mouche de l'olive *Bactrocera oleae*, **Gaouar (1989 ; 1996)**, indique que l'orientation n'a aucune influence sur le degré d'infestation qu'il soit établi à partir du nombre de piqûres, de galeries, de larves ou des trous de sortie.

- **Effet arbre :**

L'étude statistique de nos résultats montre une hétérogénéité hautement significative des attaques de la cératite et des fruits chutés entre les différents arbres échantillonnés. En effet, chaque arbre émet des substances volatiles de quantité et de qualité variables, donc d'intensités variables, ce qui explique ces différences d'infestations significatives.

Les résultats obtenus indiquent que l'arbre a un impact sur les attaques de la cératite et restent similaires aux travaux antérieurs (**Hassani, 2005 ; Selka, 2006 et Salah, 2011**) réalisés dans la wilaya de Tlemcen.

Drew (1989) et Metclaf (1990) considèrent que ce sont les odeurs de l'arbre ou kairomones, substances volatiles attractives à longue distance, qui fonctionnent comme leurre des mâles sexuellement mûres et les femelles immatures, les phéromones sexuelles assurant le succès de l'accouplement, stimulent ainsi l'oviposition.

Fletcher (1987) et Duyck (2005) attribuent cette différence d'infestation d'un arbre à un autre à la compétition intraspécifique, les mouches étant plus abondantes que leur ressource nutritive. La compétition intraspécifique la plus importante chez les Tephritidae concerne les femelles sur les fruits. Leur agressivité peut diminuer la fécondité et par conséquent la ponte des œufs, en encourageant les femelles matures à se disperser.

Gaouar (1991) attribue l'incidence de l'arbre à sa position spatiale dans le verger puisque ceux situés aux bords du verger sont souvent les plus attaqués.

Les travaux de **Ilias (2013)** montrent aussi une hétérogénéité hautement significative des attaques de la mouche de l'olive entre les différents arbres échantillonnés.

- **Effet de la date d'observation.**

Les résultats statistiques obtenus montrent une influence des dates d'observation sur le taux des trous de ponte et celui des fruits chutés.

Les infestations et les fruits chutés varient significativement selon les dates d'observation comme chez **Hassani (2005), Selka (2006) et Bensenouci (2007)**. La date est liée aux variations climatiques dont on connaît l'impact sur la biologie de tous les organismes vivants en général et sur les invertébrés en particulier (**Lamy, 1997**), il est donc normal que ce facteur ait autant d'influence sur ce phytophage.

- **Cycle de développement :**

La durée de développement de *Ceratitis capitata* aurait dû être déterminée à partir des élevages effectués au laboratoire, or nous n'avons pas pu suivre le cycle évolutif de la mouche en des conditions climatiques particulièrement défavorables au développement de la mouche.

Selon **Duyck (2005)**, les principaux facteurs pouvant affecter la distribution, le développement et la survie chez les Tephritidae sont la température et l'humidité.

Naamani et al., (1997) indiquent que la maturité croissante des fruits stimule l'activité des mouches, ce sont les mauvaises conditions climatiques qui l'inhibent.

Les fruits de notre verger sont très piqués, mais nous avons remarqué l'absence de larves et pupes durant nos élevages, ce qui nous permet de supposer que ce sont les basses températures qui arrêtaient le développement larvaire, les œufs sont morts avant leur éclosion ou que les piqûres étaient stériles.

Selon **Weems (1981)**, le développement des œufs, des larves et même des pupes ne peut se faire à 10°C ; selon **Delrio (1985)**, les œufs deviennent infertiles à des températures minimales allant de 4 à 7°C.

Ceci pourrait aussi être dû à la présence des glandes huileuses dans l'épiderme des agrumes qui provoquent une forte mortalité des œufs (**Ortu, 1982**). Ce même auteur a constaté que le nombre de glandes huileuses par cm² de la surface du fruit, joue un rôle important dans la résistance des fruits aux attaques par la cécidomyie.

Dahmane (1996) a signalé que plus de la moitié des piqûres de la cécidomyie sur les agrumes ne sont pas destinées à la ponte mais plutôt à nourrir les adultes.

L'épaisseur de l'écorce et sa compacité augmentent la mortalité des œufs par étouffement et réduisent la progression des jeunes larves (**Ortu, 1982 ; Sampaio et al., 1984 ; Krainaker et al., 1987**).

Loussert (1989) a signalé qu'un épiderme plus épais gêne le développement larvaire.

Delrio (1985) ajoute que chez les agrumes, les œufs et les larves présentent une très forte mortalité à cause de la toxicité des essences de la peau.

Selon **Dhouibi et al. (1995)**, la mortalité larvaire chez les Citrus, en particulier l'oranger, pourrait être due à la composition chimique de l'écorce des fruits.

De leur côté, **Bertin et al. (1998)** signalent que la faible teneur en eau et les huiles essentielles de la peau entraînent une forte mortalité des œufs et des plus jeunes larves ; ces dernières peuvent être tuées par les sécrétions gommeuses des fruits.

Sampaio et al. (1984) ont signalé que l'acidité du fruit d'orange peut agir sur le taux d'infestation par la mouche méditerranéenne des fruits mais d'une manière non significative,

Nicanor et al. (1990) ont rapporté, pour leur part, que l'acidité agit sur la mortalité larvaire.

2. Etude mycologique

La présence importante et la diversité des espèces de moisissures dans nos prélèvements sont probablement dues aux conditions de l'environnement favorables à leur développement durant la période d'étude ainsi qu'à la maturation des oranges. Nous avons constaté que les moisissures préfèrent un milieu à base organique (PDA) et pH acide.

Dans notre verger étudié, nous avons pu isoler huit genres de champignons : *Alternaria sp.*, *Aspergillus sp.*, *Aspergillus niger*, quatre genres de *Penicillium sp.* et *Monilia sp.*

La flore fongique totale dans nos échantillons révèle une dominance des moisissures filamenteuses très sporulantes qui ont un très grand pouvoir de dissémination : *Penicillium*, *Aspergillus* et *Alternaria*. D'après **Manner et al. (2005)**, ces moisissures s'attaquent aux fruits mûrs, ce qui est le cas pour nos prélèvements.

D'après **Lepoivre (2003)**, les champignons filamenteux sont les pathogènes les plus importants par comparaison avec les bactéries et les virus.

Les travaux de **Selka (2007)** et **Salah (2011)** sur l'orange de Tlemcen ont révélé la prédominance d'*Alternaria*, *Penicillium* et aussi la présence d'*Aspergillus niger*, ce que confirme nos résultats.

Les spores d'*Alternaria sp.* sont présentes toute l'année dans les vergers, c'est un champignon phytopathogène des blessures (grattage d'épiderme, plaie de coupe du pédoncule...), mais il pénètre surtout dans les fruits par les ouvertures naturelles (ombilic, cicatrice stellaire, craquelures de base du pédoncule) (**Olsen et al., 2000**). Par conséquent, les attaques des fruits par *Ceratitis capitata* favorisent leur implantation, notamment au

niveau des trous de ponte, ce qui explique nos résultats, le pourcentage d'*Alternaria sp.* dans les échantillons infectés étant supérieur à celui des échantillons sains.

Penicillium sp. est un champignon responsable de plus de 80% de la pourriture des agrumes, toutes les espèces et variétés y sont sensibles (Olsen *et al.*, 2000).

L'espèce *Penicillium digitatum* est responsable de «la pourriture verte» des agrumes, ainsi nommée à cause de la couleur de ses spores, qui en fin d'évolution, couvrent la totalité des fruits atteints. C'est strictement un parasite de blessures, ne pouvant pénétrer les épidermes intacts (Kim *et al.*, 1991).

Selon Fourie (2004), *P. digitatum* reste actif aux températures habituelles d'entreposage, tandis que *Penicillium italicum* est responsable de la «pourriture bleue» des agrumes, ainsi nommé à cause de la couleur de ses spores. C'est un parasite de l'épiderme intact, plus redoutable de ce fait que *P. digitatum*.

La dominance de *Penicillium* dans nos vergers est observée pour tous les prélèvements. En effet, c'est un champignon filamenteux ubiquiste. Il est largement répandu dans les sols, sur les végétaux en décomposition et dans l'air. C'est aussi un contaminant de laboratoire (El khoury, 2007).

Nous avons obtenu plusieurs aspects macroscopiques du genre *Penicillium*, mais nous n'avons pas pu identifier les espèces par manque de moyens matériels.

Dans le cas d'*Aspergillus sp.*, c'est un pathogène très fréquent sur de nombreuses variétés d'agrumes (Olsen *et al.*, 2000). Dans nos prélèvements, il est présent dans les oranges saines et infectées. Cette présence importante peut être due au fait que les spores d'*Aspergillus* se dispersent facilement puisque c'est un genre ubiquiste, capable de se développer dans le sol, les détritiques et sur les végétaux malades. Les champignons appartenant à ce genre sont responsables de maladies chez l'homme et les animaux (aspergillose pulmonaire, allergies ou mycotoxiques) (Schuster, 2002).

D'autre part dans notre verger, le genre *Monilia sp* est un champignon qui attaque les arbres, précisément *Monilia fructicola* qui attaque les arbres à noyaux (pêcher, abricotier, cerisier et prunier). Ce genre est présent dans nos échantillons infectés avec un pourcentage faible.

Sur les fruits, l'attaque se manifeste par la présence de petites tâches rondes et brunes puis les tâches s'élargissent et envahissent le fruit entier. Les fruits peuvent tomber à terre ou rester sur l'arbre.

L'apparition du champignon est considérablement facilitée par l'attaque des insectes (dont *C. capitata*). Les conditions climatiques (grêle, vent violent) jouent aussi un rôle important.

3. Etude phytochimique :

La résistance des végétaux aux agressions microbiennes, parasitaires, et autres ...est rapportée dans de nombreux travaux (**Staskawicz et al., 1995**) ; (**Karban et Boldwin, 1997**) ; (**Macheix et al., 2005**). Cette défense allélopathique se fait par leurs composés phénoliques.

Parmi ces composés, on trouve les tanins et les flavonoïdes qui sont une des formes de défense soit par l'astringence et le goût amer dû aux tanins, soit par la pigmentation vive due aux flavonoïdes qui renseignent les agresseurs sur la toxicité de l'agressé, qui est la plante en l'occurrence (**Del Río et al., 2003** ; **Iannotta et al., 2007**) .

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse des principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (**Kansole, 2009**). Ce pouvoir de défense de la plante par ses propres composés explique son pouvoir allélopathique (**Markakis et al., 2010**).

Dans notre étude, nous avons choisi l'oranger, plus précisément l'écorce de ses fruits, pour montrer le rôle de quelques substances biochimiques (flavonoïdes, tanins et les huiles essentielles) dans l'interaction avec les pathogènes, appelée effet allélopathique.

L'oranger est très riche en composés phénoliques, la lutte commence par la sécrétion des tanins, qui présentent des teneurs élevées chez l'orange infectée, ce sont des substances constitutives alors que les flavonoïdes sont inductibles, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes, nous en déduisons que ces composés sont

impliqués dans la défense contre les agresseurs mais en intervenant après l'action des tanins.

Les résultats de notre travail montrent que les teneurs en phénols des fruits infectés (20,4 mg /g) sont plus élevées par rapport à celles des fruits sains (15.06mg /g) ; ce qui justifie le rôle de ces composés dans la défense contre les agressions. Selon **Bourab (2000) et Rahioui et al. (2002)**, les composés phénoliques sont synthétisés suite à une agression pathogène.

Plusieurs travaux portant sur l'interaction plantes-pathogènes ont prouvé la relation et le rôle des composés phénoliques dans la défense contre les pathogènes (**Dixon et al., 2002 ; Cayuela et al., 2006 ; Baidez et al., 2007 ; Gaouar Benyelles et al., 2014**). Ces auteurs ont observé l'accumulation de ces composés dans les tissus des plantes après infection par des pathogènes.

Selon **Markakis et al. (2010)**, il y'a une corrélation entre la résistance à l'infection par *Verticillium dahliae* Kleb. et l'accumulation des composés phénoliques chez l'olivier.

D'après **Mclusky et al. (1999)**, chez l'oignon, les granules renferment des composés phénoliques au site de pénétration du pathogène *Botrytis allii*.

Gaceb et Rahmania (2002) montrent que les polyphénols jouent un rôle important dans la résistance du palmier dattier à la fusariose causée par *Fusarium oxysporium*.

Les composés secondaires des plantes sont donc des substances allélochimiques susceptibles d'agir comme des systèmes de défense constitutive directe, permettant aux plantes de réduire les dégâts occasionnés par leurs ennemis naturels. Par exemple, chez l'algue rouge, et suite à une agression des pathogènes, tous les composés phénoliques produits directement sont impliqués dans la résistance (**Bouarab, 2000 ; Bouarab et al., 2004**).

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes chez tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactérienne et antifongique, (**Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004**).

Les composés phénoliques participent dans la défense de la plante soit comme barrière mécanique dans le cas de la lignine, soit comme barrière chimique en agissant comme des antibiotiques ou des fongicides.

Pour les tanins, la teneur des fruits infectés (11,8mg/g) est supérieure à celle des fruits sains (8,26mg/g). Leur effet astringent est connu comme moyen de « dissuasion » contre les attaques par les agresseurs en allélopathie.

Concernant les flavonoïdes, nos résultats présentent aussi des teneurs plus élevées chez les oronges infectées (120,7mg/g) que les oranges saines (65mg/g). Selon **Ezeabara (2013)**, toutes les parties de plantes d'agrumes contiennent des flavonoïdes.

Crozier et al. (2006) ont noté que les flavonoïdes sont présents en haute concentration dans la peau des fruits d'agrumes.

Les flavonoïdes sont l'un des plus grands groupes de métabolites secondaires qui jouent un rôle important dans le pouvoir allélopathique des plantes. Ils interviennent comme des composés de défense ainsi que dans la signalisation de la reproduction, de la pathogenèse et de la symbiose.

L'analyse par C.C.M des flavonoïdes que nous avons obtenus a montré la présence de flavones, phénols simples et acide phénols, ce qui justifie leur rôle dans la défense contre les microorganismes.

Pour les huiles essentielles, l'hydrodistillation réalisée sur les zests d'orange de *C. sinensis*, nous donne un rendement en Huiles Essentielles extraites de 0,72%. **Jeannot et al. (2005) et Fuselli et al. (2008)** ont observé des rendements allant de 0,25 à 0,57% pour l'H. Es de *C. aurantium* ; 0,6 à 0,8% pour les H. Es. de *C. sinensis* et 0,7 à 0,9 % pour les H. Es de *C. limonum*.

Rega et al. (2003) rapportent que les rendements en H. Es chez Citrus diffèrent selon l'espèce. Cette différence pourrait être expliquée selon **Kelen et Tepe (2008)** par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'H.Es.

4. Activité insecticide

Les plantes ont développé une large variété de mécanismes de défense contre l'attaque des insectes phytophages.

Dans cette étude, nous avons testé biologiquement l'activité insecticide des extraits phénoliques et de l'huile essentielle que nous avons extraits des oranges prélevées de notre verger d'étude, contre les adultes et les larves de la mouche des fruits *C. capitata*.

D'après nos résultats, l'extrait flavonoïque de la phase acétate d'éthyle a un effet biocide plus actif que l'extrait nbutanol et l'extrait tannique chez les adultes, leurs taux de mortalité sont de 100, 63,3 et 60 respectivement à la dose 8µl/L.

Pour les larves, les résultats ont montré que le composé phénolique ayant la meilleure activité biocide contre les stades L1, avec la moindre dose, reste la phase nbutanol, suivie par la phase acétate d'éthyle, et le moins actif est l'extrait des tanins.

A partir de ces résultats, nous constatons que chez l'oranger, les extraits de flavonoïdes ont un effet insecticide sur les adultes et les larves du premier et deuxième stade de *C. capitata*.

Selon **Furneri et al., 2002**, le mode d'action des composés phénoliques dépend de leur concentration.

Beaucoup de travaux montrent l'activité insecticide des composés phénoliques de différentes plantes. Selon **Bouchelta et al. (2005)**, la réponse des adultes de *B. tabaci* varie entre les composés phénoliques de la tomate, et avec un même composé suivant la concentration testée. Comme dans le cas des œufs, ce sont les alcaloïdes qui provoquent la mortalité la plus élevée, les saponines et les flavonoïdes affectent relativement moins la survie des adultes de *B. tabaci*.

Raveen et al. (2014) ont montré que les extraits des fleurs de *Neriumoleander* (apocynaceae) ont une activité larvicide importante sur *Culex quinquefasciatus* (Culicidae).

L'étude de **Rampadarath (2014)** montre que les espèces de *Jatropha* ainsi que *R. communis* possèdent des propriétés antimicrobiennes et insecticides.

De nombreuses études se développent actuellement pour isoler et identifier des composés de plantes qui ont une activité antibactérienne, antioxydante, antifongique et insecticide. (**Djenane et al., 200.2 ; Bousbia 2004 ; Bouzouita et al., 2008 ; Djenane et al., 2011 ; Bouayad, 2014 ; Tabti, 2015**).

Pour l'activité insecticide des huiles essentielles, notre étude montre que l'huile essentielle d'orange testée a un effet très intéressant vis-à-vis les adultes de *C. capitata*.

Le taux de mortalité chez les stades adultes est plus important que celui des larves. A la dose 5µl 100 de mortalité après 24h d'exposition, alors que chez les larves de stade L1 et L2, à la même dose le taux de mortalité est de 50 et 63.3 en moyenne respectivement.

Nos résultats concordent avec ceux de **Bachi (2012)**, qui montre que les huiles essentielles des agrumes révèlent un effet significatif sur la mortalité des adultes de *Ceratitis capitata* en augmentant la dose et le temps d'exposition.

L'huile essentielle de citron, s'avère plus efficace que l'huile essentielle d'orange et l'huile essentielle de pamplemousse. Ceci serait dû à la toxicité des composants chimiques de cette huile, notamment le limonène, les terpènes, les aldéhydes et le linolol. Ces composés se trouvent même dans l'huile essentielle d'orange et l'huile essentielle de pamplemousse.

La toxicité de l'huile essentielle de citron vis-à-vis des adultes de *C. capitata*, serait probablement lié au citral et 5,7 diméthoxycoumarines et le linolol.

Salvator et al. (2004) constatent après une série d'expériences menées au laboratoire que le rajout d'une petite quantité de citral, 5.7 diméthxycoumarines et le linolol à l'extrait de zest de citron stocké augmente la mortalité larvaire de la cératite à une moyenne identique que celle obtenue avec l'extrait de citron frais.

L'efficacité de l'huile essentielle d'orange serait probablement due à la composition chimique qui présente un pourcentage de limonène plus élevé.

Selon **Metna (2009)**, les variétés d'orange double fine et Valencia sont les moins infestées (0.23piques/fruit pour la première variété et 0.5 piques/fruit pour la deuxième variété). La résistance de ces variétés serait due à plusieurs paramètres comme la teneur en huiles essentielles de l'écorce et la nature des substances volatiles.

5. Activité antifongique

Dans cette étude, les extraits phénoliques et l'huile essentielle d'orange sont testés pour leur activité antifongique dans le but d'utiliser ces extraits dans la lutte biologique.

D'une manière générale, la capacité antimicrobienne des composés phénoliques est bien connue (**Puupponen-Pimiä et al., 2001 ; Markin et al., 2003**).

Les extraits et l'huile essentielle des oranges révélant des activités antifongiques, la réponse pour chaque micro-organisme testé est différente.

Conclusion :

L'ensemble des résultats obtenus confirme le pouvoir allélopathique de l'oranger contre ses bioagresseurs puisque nous avons obtenu des taux de tanins, flavonoïdes et huiles essentielles nettement supérieurs chez les oranges attaquées.

Les différents tests ont confirmé les pouvoirs insecticide et fongicide des extraits obtenus. Cependant pour pouvoir utiliser les composés phénoliques et les huiles essentielles en tant que biopesticides, il faudra réaliser des travaux complémentaires d'identification des composants actifs et leur mode d'action. Ces recherches devront faire l'objet d'investissements majeurs afin de mieux valoriser et exploiter le patrimoine végétal tout en contribuant à la préservation des écosystèmes.

CONCLUSION

L'infestation de l'oranger par *Ceratitis capitata* représentée par le nombre de piqûres et le nombre des fruits chutés a été étudiée dans la région de Maghnia. Les attaques de ce phytophage montrent des variations spatio-temporelles significatives.

L'étude statistique de nos résultats montre une hétérogénéité hautement significative des attaques de la cératite et des fruits chutés entre les différents arbres échantillonnés et aux différentes d'observation.

Notre région d'étude est très infestée en raison des températures et hygrométries élevées, favorables au développement de la mouche.

L'orientation des fruits dans l'arbre semble avoir une légère influence sur les attaques de la cératite et sur les fruits chutés, même si les analyses statistiques n'ont pas révélé un effet significatif de ce facteur sur le degré d'infestation.

L'étude de la mycoflore des oranges du verger étudié présente une grande diversité des genres des champignons en raison des fortes attaques de *C. capitata*.

Nous avons isolé huit genres de champignons : *Alternaria sp*, *Aspergillus sp*, *Aspergillus niger*, quatre genres de *Penicillium sp*. et *Monilia sp*. avec une dominance des moisissures filamenteuses très sporulantes qui ont un très grand pouvoir de dissémination.

En effet, ces infections coïncident avec la fin du développement de la cératite, c'est-à-dire avec l'apparition des trous de sortie des larves de l'insecte par lesquels vont pénétrer les microorganismes.

L'étude de la lutte naturelle de l'oranger contre les agressions microbiologiques, par une comparaison des teneurs en composés phénoliques entre les fruits sains et infestés, a permis de connaître le pouvoir allélopathique de cet arbre.

Les résultats de notre travail montrent que les teneurs en phénols des fruits infectés (20,4 mg /g) sont plus élevées par rapport à celles des fruits sains (15.06mg /g) ; ce qui justifie le rôle de ces composés dans la défense contre les agressions.

L'oranger est très riche en composés phénoliques, la lutte commence par la sécrétion des

CONCLUSION

tanins, qui présentent des teneurs élevées chez l'orange infectée, ce sont des substances constitutives alors que les flavonoïdes sont inductibles, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes, nous en déduisons que ces composés sont impliqués dans la défense contre les agresseurs mais en intervenant après l'action des tanins.

Ainsi, il semble évident à travers cette étude que les composés secondaires produits par les systèmes de défense chimique des plantes sont déterminants dans le maintien des relations étroites qui lient ces plantes avec les différents niveaux trophiques.

L'activité antifongique des oranges de la variété Washington navel est étudiée à partir des extraits tanniques et flavonoïques ainsi que de l'huile essentielle de l'écorce d'orange. Tous les extraits ont montré une activité et un effet inhibiteur, la réponse pour chaque champignon testé est différente mais positive ; ce qui nous permet de dire que ces extraits peuvent être utilisés dans la lutte contre les microorganismes.

Les tests de l'activité insecticide contre les larves et les adultes de *C. capitata* ont montré de bons résultats pour les substances phénoliques tant sur les adultes que sur les larves.

L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure qu'il existe une défense naturelle dite allélochimique de l'oranger contre ses agresseurs dans notre verger puisque, en plus des composés phénoliques produits en excès chez les oranges infestés, ses H.ES ont également un haut pouvoir allélopathique.

Pour une étude plus approfondie, nous espérons poursuivre nos investigations pour établir un schéma de lutte intégrée, utilisant ces différents extraits testés in situ, spécifique à notre région.

- Abbott, W.S. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal
- Abdelli O., 1996 :** Etude de quelques aspects de la biologie de la mouche méditerranéenne des fruits *C.capitata* Wiedmann(1924), (Diptera : Trypetidae) dans le parc à bois de (Tizi Ouzou). Mémoire.mag.Inst.Sc.Nat.Uni.Tizi Ouzou.76p.
- Adrian J ; Frangne R ., , 1991.** La science Alimentaire de A à Z, Ed. *Lavoisier, Paris.*
- Ali Ahmed- Sadoudi D., 2007:** Bioecologie de la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Trypetidae) dans quelques vergers de la Kabylie. These de Doctorat. Uni. MOULOUD MAMMERI. T O. 197p.
- Anonyme (2000).**Alteration des agrumes.En ligne <http://www.univ-brest.fr / esmisab /sites sc /Myco alteration –fruits – légumes/ ALTAGR.H.T.M>.
- Atcitrus. (2002) :** La mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*). Asociation Tucumana del Citrus.3p.
- Aubert, B. (1988).** *Le greening, une maladie infectueuse des agrumes. Stratégies développées à l'île de la Réunion. Circonstances épidémiologiques en Afrique/Asie et modalités d'intervention.* (Paris, France ed.): CIRAD.
- Aubert, B. (1992).** Citrus greening disease, a serious limiting factor for citriculture in Asia and Africa. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2, 817-820.
- Aulong, S., Dury, S., & Temple, L. (2000).** Dynamique et structure floristique
- Audigie CI., Flgarella J., Zonszian F., (1980).** Manipulation d'analyses biochimiques . Ed.doin. paris .Pp 3, 146, 149.
- Bachelot C., Blaise A., Corbel T. et Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles : extraction et comparaison. U.C.O Bretagne : 1-18
- Bachi K., 2012.**Etude de l'infestation de différentes variétés de figuier(*Ficus carica*L.) par la mouche mediterrannéenne *C.capitata*. Effets des huiles essentielles sur la longévité des adultes .thèse de magister.Univ.Mouloud Mammeri.
- Bagnouls F et Gausse H., 1953.** Saison sèche et indice xéothermique Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse.T. 80, fax. (3-4).pp 193-239.
- Baidez, A.G., Gomez, P., Del Rio, J.A. and Ortuno, A. (2007).** Disfunctionality of the xylem in *Olea europea* L. plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defence mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**: 3373-3377.

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M.(2008).** Biological effects of essential oils .Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475.
- Balachowsky A.S. & Mesnil L., 1935:** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Ed. Busson, tome 1, Paris, pp: 242 – 253.
- Balashowsky A.S., 1951** lutttes contre les insectes : principes, méthodes, et application. Ed Payot, Paris, 380p.
- Barnett H.L and B.B. Hunter. (1972).** Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Minnesota (USA): 3ème édition.
- Bechchi- Benhbib C.(2001).** Analyse d'huile essentielle d'Ammoides Verticillata (Nunkha) de la region de Tlemcen et etude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de Mag.Algérie. Inst.Bio.F.Sc.Univ.Tlemcen.
- Belliti N., Nida Gijimana M., Sisto C., Guerzoni M.E., Lanciotti R., et Gardini F.(2004).** Evaluation of antimicrobial activity of citrus essences on Saccharomyces cerevisiae. Journal Agricultural Food Chemistry, 52(23), 6932-6938.
- Bensnoui,Y. (2008)** Contribution à l'étude des infestations des fruits de *Citrus sinensis* variété sanguinelli par *Ceratitiscapitata* et comparaison entre la composition chimique des feuilles saines et infectées de l'orange de la region de Tlemcen. Mémoire d'Ingéniorat en écologie Animal. Université Abu BekrBelkaid, Tlemcen.
- Bertin Y., Didier C. & Ducelier D., 1998:** Protection phytosanitaire des agrumes.CIRO-FLHOR. pp : 73 – 76.
- Bonizzoni M ; Malacrida AR ; Gulieimino C.R ; Gomulski L.M ; Gasperi G ; et Zheng L. (2000) :** Microsatellite polymorphism in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. Insect Molecular Biology, 9 :251-261.
- Bouayad Alam S. 2014 :** Activités antimicrobiennes et insecticides de *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse *Tuta absoluta* (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate *Lycopersicum esculentum*.Thèse de Doct.Eco.envir.Uni. de Tlemcen, 150p.
- Bouchelta A., Boughdad A., et Blenzar A.(2005).** Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). Biotechnol.Agron.Soc. Environ (ed) ; 9(4) ; pp :259-269.

- Boudjlida H and N.Soltani. (2011)** : Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* L.(Diptera :Tephritidae).Annals of biological Research. Depart.Ento. Univ.Badji Mokhtar, Annaba, Algeria 2(2) : 104-110.
- Bourab K, 2000.**Bases biochimiques et cellulaires des interactions plante-pathogène dans le système chondruscrisques *Acrochaete operculata*.Doc.Univ.Paris 6.France.
- Bousbia. 2004.** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriande, origan, thym, romarin), étude de leurs activités antibactériennes. Thèse de Magistère. Option Sciences Alimentaires, INA.Algérie.
- Bouzouta N., Kachouri F., Ben Halima M., et chabouri M. (2008)** : Composition chimique et Activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juneperus Phoenicea*. Journal de la société Chimique de Tunisie, 10, 119-125.
- Bruneton J, 1999.** Pharmacologie-Phytochimie-Plantes médicinales. Tech.et Doc.Ed. Lavoisier (3° Edition). Paris capitata. Entomol. Exp. Appl. 99, pp: 253-261.
- Cayol J.P ; Coronado P.et Taher M (2002)** : Sexual compatibility in medfly (Diptera : Tephritidae) from different origins. Florida Entomologist 85(1) : 51-57.
- Cayuela, J.A., Rada, M., Rios, J.J., Albi, T., and Guinda, A. (2006).** Changes in phenolic composition induced by *Pseudomonas savastanoi* pv. Savastanoi infection in olive tree: presence of large amounts of verbascoside in nodules of tuberculosis disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **26**: 5363-5368.
- Chouibani M ; Ouizbouben A et Kaack H. (2003)** : Protection intégrée des agrumes. Ed-Ouvrage réalisé par la direction de la protection des végétaux, des contrôles techniques et de la Répression des faudes en coopération avec la GTZ (Projet contrôle Phytosanitaire).13p.
- Chouibani, M.; D. Papacek.; A. Mazih; H. Kaak. 1997:** Protection intégrée des agrumes au Maroc. Proc. 3ème Congrès de l'AMPP. Rabat.
- Christien, V., Navarro, L. Bové, J.M., (2002).** IVIA, Moncada, Valencia, Espagne. INRA et Université Victor Segalen Bordeaux 2,BP.81,33883 Villenave d'Ornon, France.
- Constontino 1950** : Contributo alla conoscenza della masco della.*Ceratitis capitata*(Diptera, Trypetidae)
- Crozier A, Ashihara H, Clifford MN (Eds). 2006a.** Plant Secondary Metabolites and the Human Diet. Oxford: Blackwell Publishing.

- Cox.S.D., Mann C.M., MARKHAM J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., et Wyllie S.G.(2000).** The mode of antimicrobialaction of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*.
- Dahmane A., 1996 :** Contribution a l'étude bioecologique de la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824), (Diptera, Tephritidae) dans la region de Mitidja. These de magister en Ecologie animale, Uni des sciences et de la technologie HOUARI BOUMEDIENNE. Alger, 143 p.
- De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. et Marquier P. (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huile essentielle – Hygiène (Revue officielle de la société française D'hygiène hospitalère),10, 248-251.
- Del Río, J.A., Báidez, A.G., Botía, J.M. and Ortuño, A. (2003).** Enhancement of phenolic compounds in olive plants (*Olea europaea* L.) and their influence on resistance against *Phytophthora* sp. *Food Chemistry* **83**: 75.
- De Meyer M ; Copeland R.S ; Wharton R.A et Mcpheron B.A(2004) :** On the geographic origin of the Medfly *Ceratitis capitata* (Widemann) (Diptera : Tephritidae). *In Proceedings of the 6th International Fruit Fly Symposium*, pp.45-53.
- Dekhli L., 2006:** Estimation de l'infestation par *Ceratitis capitata* (Wied. 1824) et suivi de la dynamique de ses populations sur différentes espèces et variétés fruitières à Tizi-ouzou et Boumerdes. Thèse. Ing. Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques. Uni de Tizi-Ouzou. 90p.
- Delrio G., 1985:** Tephritid pests in citriculture.CEC/Proc. Experts meeting. Acireal; Balkema. Rotterdam. Integrated pest control in citrus. Ed. Recher. CAVALORO and DIMARTINO. pp: 135- 149.
- Dhouibi M.H., Gahbich H. & Saadie B., 1995 :** Evolution de l'attaque des fruits
- Dixon R.A ; Achnine L ; Kota P ; Liu C.J ; Reddy M.S.S and Wang L ., 2002.** The phenylpropanoid pathway and plant defence - a genomics perspective. *Mol. Plant Pathol.*, 3, 371-390.
- Djenane D., Sanchez-Escalante A., Beltran J.A.et Roncalès P. (2002).** Ability of - tocophérol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxydative stability of beefs steacks Packaged in modified atmosphère. *Food chemistry*, 76, 407-415.

- 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.
- Dogjan S.; Turan Y.; ErtUerk H.; Arsian D., 2005.** Characterization and Purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.).*J.Agric.Food Chem.*, 53,776-785.
- Dobremez J.F., Gallet C. Et Pellissier F., 1995.** La guerre chimique chez les végétaux. *La recherche*.26. 912-916.
- Dohou N ., Yani K ., Thahrouch S ., Idrissi Hassani L-M ., Badoc A ., G mira N.(2003).** Screening phytochimique d'une endémique ibéro- Marocaine; *Thynelaea lythroides* .*Bull..Soc.Pharm.Bordeaux*.142:61-78.
- Dongmo P.M.J., Kuate J., Fekam Boyom F., Ducelier D., Damesse F., Amvam Zollo P.H., Menut C., Bessière J.M..2002.** Composition chimique et activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, *Fruits* 57 (2) 95-104.
- Dorantes L., Colemanro R., Hernandez H., Mota L., Jouillo M.E., Fernandez E et Solano C. (2000).** Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *International Journal Food .Microbiology*, 57, 125-128.
- Dorman H.J.D et Deans S.G.(2000).** Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils *.Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
- Dosba F., 2002** implantation de la protection variétale au niveau des opérateurs. UMR 1098, biologie des développements des plantes pérennes cultivées. ENSA.M-INRA, 2 place riala 34060 montpellier Cedex 1.
- Drew, R.A.I. (1989).**The tropical fruit fly (Diptera: Tephritidae) of the Australian and Oceania region. *Memoirs of Queensland Museum*, South Brisbane, Australia.26.
- DSA, 2013.**Direction des services agricoles de la wilaya de Tlemcen.Bilan campagne Oléicole, Tlemcen.
- Dridi B., 1990:** Etude de quelques aspects de la biologie de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Trypetidae) Différenciation entre souche d'élevage et population provenant d'Algérie. Thèse 3^{ème} cycle. Univ. Aix. Marseille III, Fac. Sc. Tech St Jérôme. 113p.
- Duyck P.F. & Quilici S., 2001:** Etude comparee de la biologie du developpement chez trois especes de mouches des fruits (*Ceratitis* Spp.)(Diptera : Tephritidae),

nuisibles aux cultures fruitiers a la Reunion. AMAS : Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius, pp : 105-113.

Duyck,P.F. (2005). Compétition interspécifique et capacités invasives. Le cas des Tephritidae de l'île de la Réunion.These .Doc. Univ. La Réunion. pp. 93.

Elaini R., 2003: Contribution au développement des techniques de lutte contre la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera,Tephritidae) en verger d'agrumes et en post-recolte. These. Ing. en Agronomie, I.A.V. HASSAN II. pp : 4 - 17.

Elhai M, 1974. Biogéographie.Ed.Arnaud Colin Paris, pp404.

Emberger L., 1952. Sur le quotient pluviométrique. N° 234: 2508-2511. Paris.

Eskafi, F.M et Fernandez, A. (1990) Larval-pupal mortality of Mediterranean fruit fly (Diptera : Tephritidae) from interaction of soil, moisture, and temperature. Environmental Entomology, 19 :1666-1670.

Eulgem T, 2005. Regulation of the Arabidopsis defence transcriptome.Trends in Plant Science, 10, 71-78.

Ezeabara Chinelo A , CU Okeke and Bibian O Aziagba (2013). Flavonoid Content of *Citrus* Species Grown in Awka, Anambra State, Southeastern Nigeria. *Inter J Agri Biosci*, 2(3): 103-107.

Fanny B., 2008. Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la reunion. Thèse de doct.en vétérinaire.(78p). Uni. Paul Sabatien de Toulouse.

FAO/IAEA , 2000.Quantification of tannins in tree foliage.FAO/IAEA.Working document IAEA, Vienna.p26.

Filippi J.B., 2003 : Une architecture logicielle pour la multi modélisation et la simulation à événements discrets de systèmes naturels complexes.Thèse doctorat. Uni. Corse PASQUALE PAOLI. 162 p.

Fisher K., Rowe C et Phillips C.2007. The survival of three strains of *Acrobacter butzleri* in the presence of lemon orange and bergamot essential oils and their components in vitro and food. Letters in applied Microbiology, 44, 495-499.

Fitt, G.P. (1989). The role of interspecific in the dynamics of tephritid populations. In Fruits flies, their biology, Natural Enemies and Control. World Crop pests (Ed A.S. Robinson &G.Hooper), Vol. 3B, Elsevier, Amsterdam.pp. 281-300.

Fletcher B. S., 1987. The biology of Dacine fruit flies. CSIRO,Division of entomology , 55 Hastings Road, Warrawee, New South Wales 2074, Australia

- Fleuriet A and Macheix J.J., 2003.** Phenolic acids in fruits and vegetables. In: Flavonoids in health and disease, Rice-Evans CA, Packer L, eds, Marcel Dekker, New York, p.1-44.
- Fourie, A.(2004).**Biochemical mechanisms for tolerance of *Citrus* rootstocks against *Phytophthora nicotinae*. Submitted to the Faculty of Natural and Agricultural Sciences (Departement of Microbiology and Plant Pathology). University of Pretoria. pp. 107.
- Franchomme, P.; Pénéol, D. (1990).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p
- Funieri P. M.; Marino. A.; Saija A.; Uccella N.; Bisignano G., 2002.** In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. Int. J. Antimicrob. Agents 20, 293-296
- Fuselli R., Susana B., Garcia D.L.R., Martin J et Rosalia F.(2008) :** Chemical composition and antimicrobial activity of Citrus essences on honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*, the causal agent of american foulbrood. *World Journal of Microbiology and biotechnology* 24, 2067-2072.
- Gaceb et Rahmania., 2002.** Etude comparative des acides phénols chez deux cultivars de palmier dattier, l'un résistant (taker boucht) et l'autre (Deglat Nour), semble à la fusariose. VIII Journées scientifiques du réseau «Biotéchnologie Amélioration des plantes et sécurité Alimentaire » de l'agence universitaire de la Francophonie. Octobre, Marrakech, Maroc : 255-256
- Gaouar Benyelles , Ilias, C. Beghdad1, M. Gaouar, And K. Medjdoub 2014** Olive antimicrobial activity against its pathogens in Tlemcen region, Algeria *Allelopathy Journal* 34 (1): 133-142 (2014)
- Gaouar N and Debouzie D., 1991.** Olive fruit fly, *Dacus oleae* Gmel. (Dipt. Tephritidae) damage in Tlemcen region, Algeria. *J. Appl. Ent.*, 112, 288-297
- Gaouar N, 1989.** Contribution à l'étude de l'infestation de l'olive par *Dacus oleae* Gmel dans la wilaya de Tlemcen, Thèse de Magister, 92p. I.N.E.S Biologie, Tlemcen.
- Gaouar, N. (1996).** Rapport de la biologie des populations de la mouche d'olive *Bactrocera Oleae* (Gmel) à l'optimisation de son contrôle dans la région de Tlemcen. These. Doc. Etat, Inst. Boil., Univ, Tlemcen. pp. 119.
- Godfray H.C.J.(1994).** Parasitoids : behavioral and evolutionary ecology (ed. JR Krebs et T Clutton-Brook). *Princeton University Press, Princeton.*

- Grayer R.J and Harborne J.B., 1994.** A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993, *Phytochemistry* 37, pp.19-42.
- Guignard, J.L.(2001).** Botanique Systématique moléculaire. 12^{ème} Ed, Masson. pp 206-209.
- Hadi .,M .(2004)** ; Thèse de Doctorat ; La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques ; Univ. Louis Pasteur ; Pharmacochimie.
- Hadj Sahraoui K., 2007** les agrumes, la production des plantes des agrumes. Ed par l'institut national de la vulgarisation agricole. Revue semestrielle Jan 2007 n°4.
- Harborne J.B and Williams C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry* 55, pp.481-504.
- Harborne J.B, 1973.** *Phytochemical methods*, London. Chapman and Hall, Ltd. Pp.49-188
- Harborne, J.B., Harborne, A.J., 1998.** *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Kluwer Academic Publishers, London.
- Harborne J.B, 1980.** Plant Phenolics. In: *Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, pp.329-402.
- Haris, 1989.** Technique de microculture
- Harvey I, 2006.** Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 2010 - 2037.
- Haslam E, 1989.** Plant Polyphenols. *Vegetables tannins revisited*, Cambridge University Press, Cambridge, and p230.
- Hassani F., 2003** étude comparative de l'infestation de 3 variétés d'agrumes par la mouche méditerranéenne des *Ceratitis capitata* Wied, dans la région de Tlemcen Thèse de Mag. Tlemcen
- Hendel F.(1927)** : Trypetidae, stuttgart. Vol.1.221p.
- Iannotta, N., Noce, M.E., Ripa, V., Scalercio, S. and Vizzarri, V. (2007).** Assessment of susceptibility of olive cultivars to *Bactrocera oleae* (Gmel.) and *Camarosporium dalmaticum* (Thüm.) attacks in Calabria. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* Vol. 42: 789-793.
- Ibrahim M.A., Kainulainem P., Afatuni A., Tilikkala K. et Holopainen J.K., 2001.** Insecticidal, repellent antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils :

with special reference to limolene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10,3, pp.243-259.

Ilias F., 2013. Lutte naturelle de l'olivier contre le ravageur *Bactrocera oleae* (Gmel.) (Diptera : Tephritidae) et la microflore qui lui est associée. Activité insecticide d'une souche locale de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche. thèse. doc.

Inderjit and Keating, K.I. (1999). Allelopathy: Principles, procedures, processes and promises for biological control. *Advances in Agronomy* **67**: 141-231.

INRA., 2002 Etude des variétés d'agrumes, revue de L'INRA n°115 Extrait de l'INRA mensuel pp 6-9.

INRA., 2005 Symposium international sur les mandarines en Méditerranée INRA-CIRAD San Giuliano.

Jacquemond C ; Curk F ; Ezzoubir D ; Kabbage T, Luro Follitruft P., 2002. Les portes greffes, composante clef d'une agrumiculture durable SRA INRA- CIRAD, San Giuliano, 20230 San Nicolao, Corse, France.

Jaset-Dongmo P.M ; Tatsadjen N.L ; Tchinda Sonw E ; Kwate J ; Amvam Zollo P.H. et Mienut.C.(2008). Antiradical potentiel and antifungal activities of essential oils of the leaves of *Eucalyptus Soligna* and *E.camaldulensis* against *phaeroramularia angalensis*. *African Journal of Biotechnology*, 7, 4045-4050.

Jeannot V., Chahboun J., Russell D. et Barel P.(2005). Quantification and determination of chemical composition of essential oil extracted from natural orange blossom water (*Citrus auranticum L. ssp.auranticum*). *International Journal of Aromatherapy*, 15(2),94-97.

Kansole M., 2009. Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Katsoyannos B.I., 1986: Effect of color properties on the selection of oviposition site by *Ceratitis capitata*. *Entomol. Exp. Appl.* 42, pp: 187 – 193.

Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A. & Papadopoulos N.T., 1997: Response of *Ceratitis capitata* to citrus chemicals under semi-natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82. pp: 181–188.

- Keane S et Ryan M.F, 1999.** Purification characterization and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* L. *Insect biochemistry and molecular biology* Vol 29(12), Pp 1097 -1104.
- Kechaou N. (2010)** Valorisation des ressources naturelles et de sous produits agroalimentaires (feuilles d'olivier, caroube, écorces d'agrumes, écarts de triage des dattes,...) *Ecole Nationale d'ingénieurs de Sfax*.
- Kelen M. et Tepe B. (2008).** Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three *Salvia* species from *Turkish flora*. *Bioresource Technology*, 99, 4096-4104.
- Khimoud D. et Louni A. (2008).** Estimation de l'infestation des différentes variétés d'agrumes par *Ceratitis capitata* Wied., 1824 (Diptera ; Trypetidae) en fonction de l'exposition dans différents vergers de la région de Tizi-Ouzou. *Memoire d'ing. en écologie animale. Univ. Mouloud Maamri de Tizi-ouzou*. 67p.
- Khoury N., 1998:** Etude préliminaire de la repartitions et de la dynamique des populations de la mouche méditerranéenne des fruits (*C. capitata* Wied.) dans différentes biotopes au Liban. *Mémoire (D.E.A), Insti de recherche agronomique Libanais Fanar*, 153p.
- Keïta S.M. Vincent C., Schimidt J.P., Arnason J. T., Belay A., 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.*, **37**, 339-349.
- Kim HJ, Chang WK, Kim MK, Lee SS, Choi BY (2002).** Dietary factors and gastric cancer in Korea: a case-control study. *Int J Cancer* 2002 February 1;97(4):531-5.
- Kim, J.J., Ben Yahoshua, S., Shapiro, B., Henis, Y. & Carmeli, S. (1991).** Accumulation of scoparone in heat-treated lemon fruit inoculated with *penicillium digitatum* Sacc. *Plant Physiology*, 97. pp. 880-885.
- Koba K ; Sanda K ; Raynaud C ; Nenonene Y.A ; Millet J ; et Chanmont J.P. (2004).** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Vis à vis des germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annales de Médecine vétérinaire*, 148, 202-206.
- Krainacker D. A., Carey J. R., Vargas R. I., 1987:** Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Ecologia*. Springer-Verlag. Vol. 73. pp: 583 – 590.

- Kuda T., Iwai A. , et Yano T (2004).** Effet of red pepper *Capsicum annum var.* Conides and garlie *Allium sotivum* on plasma liquide levels and *cecalmicro flora* in nicefed beef tallou. *Food Chemistry Toxicology* 42, 1695-1700.
- Lachiheb A.2008 :** Optimization de la dose d'irradiation dans le cadre d'un projet de lutte contre *Ceratitis capitata*. Mémoire d'ing ; Ecole sup.d'agri. de Mograne, 122p.
- Lamy M., (1997)** Les insectes et les hommes. Ed. Albin Michel, Paris. pp. 96.
- Larpent J.P., (1990)** Moisissures utiles et nuisibles.Importance industrielle, 2 éd, Masson, Paris, 512p
- Lekchiri A. 1982 .** La cératite au Maroc. CEC/IOBC Symposium Athène Ed.R. Cavallero : 571574.
- Lepoivre, P.(2003).** Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte, de université, *les Presses Agronomiques de Gembloux*.
- Loudyi W. D. E. M ; Skiredj A ; Elattir H., (2003)** *Fiches techniques: le bananier, la vigne et les agrumes n°109*Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II,Rabat.
- Loussert R., 1989 -**Les agrumes, production. Ed.Sci.Univ.,Vol2 ,Liban,280p.
- Macheix J.J; Fleuriet A and Jay-Alleman C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires Romandes.p192.
- Manach C. et al.,(2004).** **Polyphénols :** food sources and bioavailability. *Am.J.Clin.Nutr*, 79, 727-747.
- Manner, H.I., R.S.,Easton Smith V. Elevitch, C.R. (2005).** Citrus species (Citrus) , ver.1.1. In : C.R Elevitch (ED). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii, 31p.
- Manzanero Majil, V.(2004)** *Citrus tristeza virus (CTV) :* its developpent in Belize. Caraphin News, no.24, June 2004, 1-4.
- Mariau, D. (1999).** *Les Maladies des Cultures Pérennes Tropicales* (CIRAD ed.).
- Markakis E.A ; Tjamos S.E ; Antoniou P.P ; Roussos P.A ; Paplomatas E.J and Tjamos E.C., 2010.** Phenolic responses of resistant and susceptible olive cultivars induced by defoliating and nondefoliating *Verticillium dahliae* pathotypes. *Plant Dis.* 94:1156-1162.
- Mazih A., S. Eltazi, I. Srairi, L. Abaha, S. Sahil, H. Bouguiri, M. Miloudi, Y. Moubaraki, Y. Bourachidi & T. El Mourhir. 2007b.** Field experiments towards the

development of and strategy for the control of the MedFly (*Ceratitis capitata*) using ADDRESS (SyngentaAgro) in Citrus orchards. IOBC/wprs . Working Group Integrated Control in Citrus Fruit Crops, meeting Catania (Italy), 5-7 November, 2007

McLusky S.R; Bennett M.H; Beale M; Lewis J; Gaskin P and Mansfield J.,1999. Cell wall alterations and localized accumulation of feruloyl-3'-methoxytyramine in onion epidermis at sites of attempted penetration by *Botrytis allii* are associated with actin polarisation, peroxidase activity and suppression of flavonoid biosynthesis. *The Plant Journal*, 17(5), 523–534.

Metclaf, R.L. (1990). Chical ecology of Dacinae fruit flies. *Ann. Entomol. Soc. Ann*, 83: 1017-1030.

Metna F.2009 : Etude de la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae), dans différentes vergers de la région de Tizi Ouzou et de Boumerdes.Mémoire Mag. Inst.sc.Nat.Univ.Tizi Ouzou .P110.

Milane H. (2004). La quercétine et ses derives: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. These de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p

Mohammedi S., Bala Subramanian S., Yan S., Tyagi R.D., and Valéro J.R. (2006) Molecular screening of *Bacillus thuringiensis* strains from wastewater sludge for biopesticide production. *Process Biochemistry*, 41: 829-835.

Moreau C.(1974). Moisissures toxiques dans l'alimentation.2^{ème} Ed.471p.,Masson et Cie, Paris.

Naâmani, K.,Herbaut, C., El Koch, A.,Bakr, A. &Chemsseddine, M. (1997). Recherches sur la multiplication de *Ceratitis capitatitits* dans la foret d'Arganier au Maroc.FAO/IAEA International Conference on Area-Wide Control of Insect Pests. pp. 28.

Ngamol ., et Hance T., 2007. Diversité des ravageurs de denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*.

Nicanor J., Roy T. & Susumu N., 1990: Host plants of Mediterranean fruit fly (Diptera: Trypetidae) on the Island of Hawaii (1949-1985 Survey). *J. Economic Entomol.* Vol. 83 N°5, pp:1864-1878.

Nunez B.L., 1987: La moska del mediterreo. CA: Informa (Enera. Febrero maio), pp: 9 – 17.

- Olsen M., Matheron, M., McClure, M. & Xiong, Z. (2000).** Diseases of *Citrus* in Arizona. Cooperative Extension. College of Agriculture and Life Sciences. The University of Arizona. pp. 13.
- Omidbeygi M ; Barzegar M ; Hamidi Z et Naghdibadi H. (2007) :** Antifungal activity of tyme, Summer savory and clove essential oils againts *Aspergillus xavus* in liquid medium and tomato poste-Food Control, 18, 1518-1523.
- Ormières, R., Pralavorio, R., Yamvrias, C. et Laudeho, Y. (1977).** *Octospora muscaedomestica* (Fue.) (Microsporidia) parasite de *Ceratitis capitata* (Wied) et de *Dacus olea* (Gmel.) (Diptera : Tephritidae). *Biol. Gallo-hellen*, 6 : 259-270.
- Orts R ; et Giraud M. (2006) :** Protection intégrée pommier-poirier. 2^{ème} éd : centre technique interprofessionnel des fruits et légumes. 324p.
- Ortu S., 1982:** Observations on the temporary resistance of fruits of some species of citrus to the lacks of *Ceratitis capitata* WIED. in Sardinia. *Studi. Sassaesi*. 7 Ref. pp: 159-172.
- Oukil S., 1995:** Effets des insecticides et des radiations ionisantes en relation avec la variabilité (Diptera : Trypetidae). Thèse 3ème cycles. Univ. Aix. Marseille III, Fac. Sc. Tech St Jérôme. 138p.
- Ouraini D ; Agoumil A ; Ismail-Alaoui M ; Alaoui K ; Eherrah Y ; Amrani M. et Bellabas M.A (2005).** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermaphytes. *Phytothérapie*, 4, 147-157
- Oussou K.R ; Coffi K ; Nathalie G ; Seriyolou ; Gerard K ; Mireille D ; Yao In ; Gilles F. et Jean-claude C.H (2004).** Activités antibactérienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Cote d'Ivoire. *Compte rendus de chimie*, 7, 1081-1086.
- Ozgonen, H. & Karaca, G. (2005).** First report of *Alternaria mali* causing necrotic leaf spot of apples in Turkey. *New Disease Reports*. Volume 12.
- Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A. & Hendrichs J., 2001:** Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitis capitata*. *Entomol. Exp. Appl.* 99, pp: 253-261.
- Papaj D.R. & OPP S.B.R. J., 1989:** Cross inductions of fruit acceptance by Medfly par *Ceratitis capitata* en fonction de la position sur l'arbre et du degré de maturité des oranges. *Fruits*. Vol 50. N°1. pp : 39 – 49.
- Paris , R ; et Moyse, H. (1969).** Précis de matière médicinale. Paris : Masson.

- Pauli A.(2001).** Antimicrobial properties of essentials oil canstituants *International Journal of Aromatherapy*, 11, 126-133.
- P.D.A.U : Plan Directeur D'aménagement Urbain, 2006.**Tlemcen.
- Praloran ., 1971.** Les agrumes, techniques agricoles et production tropicale. Edition Maison neuve et Larox, Paris, T21 XXI et XXII, 665p.
- Quilici, S. (1999)** Fruit flies, D. Vencenot, SUAD/CIRAD: 3p.
- Prudent D., Perineau F., Bessiere J.M., Michel G.M.et Baccou J.C.(1995).** Analysis of the essential oil of with oregaw evaluation of its bacteriostatic and fungistatic properties. *Journal of Essential oil Research*, 7, 165- 173.
- Puupponen-Pimiä R; Nohynek L; Meier C; Kähkönen M; Heinonen M; Hopia A and Oksman- Caldentey K.M., 2001.**J. Appl. Microbiol; 90, 494-507
- Quilici S., 1993 :** Programme de recherche et d'action sur la mouche mediterraneenne des fruits a l'ile de la Reunion. *Fruits*. Vol. 49. Special Vergers tropicaux . pp : 28- 41.
- Quilici, S., Franck, A., Peppuy, A., Dos Reis Correia, E., Mouniama, C.et Blard, F. (2002).** Comparative studies of courtship behavior of *Ceratitis spp.* (Diptera : Tephritidae) in Reunion island. *Florida Entomologist*, 85 : 138-142.
- Rahioui B ; Charafi J ; Boulouha B ; El Boustani ;Khadri B ; Elmiane and El-Modafar C.,2002.** Role des polyphénols dans la résistance à la maladie de l'œil de paon causée par *Cycloconium oleaginum*.VIII Journées scientifiques du réseau « Biotechnologies Améloiration des plantes et sécurité Alimentaire »de l'agence universitaire de la Francophonie. Octobre, Marrakech, 263-265.
- Ramade F., 2003:** Elément d'écologie fondamentale, 3eme edition DUNOD, Paris, 690p.
- Rampadarath Sillma , Puchooa* Daneshwar , Vijayanti Mala Ranghoo-Sanmukhiya (2014).** A comparison of polyphenolic content, antioxidant activity and insecticidal properties of *Jatropha species* and wild *Ricinus communis L.* found in Mauritius. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2014; 7(Suppl 1): S384-S390
- Raveen R., Kamakshi K.T., Deepa M. , Arivoli S. and Samuel Tennyson.(2014).** Larvicidal activity of *Nerium oleander L.* (Apocynaceae) flower extracts against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research.* ; 1 (1): 38-42

- Rega B., Fournier N., Guichard E et Russell R.(2003).**Citrus Flavour .Journal of agricultural and Food Chemistry,51,117-133.
- Regnault-Roger C., 2002.** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire, *In* : Philogène B.J.R, Regnault-Roger C. & Vincent C., coord. *Biopesticides d'origine végétale*. Paris : Lavoisier-Éditions Tec & Doc, 19-39.
- Rey, D., Cuany, A., Pautou, M. P. et Meyran, J. C. 1999.** Differential sensitivity of mosquito taxa to vegetable tannins. *Journal of Chemical Ecology* **25**(3): 537-548.
- Rice, E.L. (1984).** Allelopathy. *2nd ed., Academic Press, Orlando, FL, USA.* pp. 67-68.
- Richard, H. (1992).** Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier.Paris. 339p
- Rigamonti I., 2005:** *Ceratitis capitata* in Lombardia. Quaderni Della Ricerca N° 47. Copyright Regione Lombardia. 40p.
- Salah, Z.(2011)** Essais de lutte biologique par *Bacillus thuringiensis* contre la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* Wied (Diptera :Thephritidae) dan la région de Tlemcen.the.Mag.108p.
- Salvatore A, Borkosky S ; Willin K.E.2004 :** Toxic effects of lemon peel. Constituents on *Ceratitis capitata*, *Journal of chemical ecology* A.2004,Vol 30 n°2 : 323-333.
- Sampaio G.H., Myazaki I. & Olivera D.A., 1984:** Possible factors determining the degree of susceptibility of certain citrus varieties to attack by fruit flies. *Biologico*. Ref 5. pp: 273-284.
- Schuhmacher A. et Reichiling P. (2003).** Virucidal effect of Peppermint oil on the enveloped viruses. Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 in vitro. *Phytomedicine*, 10 (6-7) 504-510.
- Schuster M, 2002.** Informing Cultural Policy: The Research and Information Infrastructure. *Journal of Cultural Economics*, 2004, vol. 28, issue 1, pages 83-88.
- Selka, O. (2007).** Etude des infestations des fruits de *Citrus sinensis* var. *Sangninelli* par *Ceratitis capitata* et par la microflore pathogène dans la plaine d'Hennaya. Thèse de Magistère Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.pp.116.
- Sforza, R., et Sheppard, A. 2004.** La lutte biologique introduction, espèces envahissantes, une méthode de lutte respectueuse de l'environnement. Les savoirs partagés d'Agricolis Museum. Pp.2-5.

- Sharma N. et Tripathi A. (2006).** Fungitoxicity of *Citrus sinensis* L. essential oil on post-harvest pathogens. *World Journal of Microbiological and Biotechnology*, 22, 587-593.
- Singleton, V.L ; Rossi, J.A .(1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Smail O. & Kheddouci D., 2000:** Relations entre le degre d'infestation de differentes varietes fruitieres par *Ceratitis capitata* Wied, 1824 (Diptera ; Trypetidae) et les caracteristiques physico-chimiques des fruits dans differents vergers de la wilaya de Tizi-ouzou, These Ing. Uni. Tizi-Ouzou. 64p.
- Sofowara A., 1993.** Medicinal plants and traditional medecine in a frica. Spectrum Books Ltd, Ibadan, Nigeria. P.289
- Stone, B.C. (1985).** Rutaceae. In : M.D. Dassanyake and F.R. Fosberg (eds.). A. Revised Handbook of the Flora of ceylon, Volume V. Smithsonian Institution and the National Science Fondation, Washingto., D.C.
- Swarup , S., Feyter, R., Brlansky, R.H. Gabriel, D. (1991).** A pathogenicity locus from *Xanthomonas citri* enables strains from several pathovars of *X.campestris* to elicit cankerlike lesion on citrus .*phytopathology*, 81 : pp802-809.
- Tabti L. 2015 :** Comparaison des activités insecticide et antimicrobienne de *Thymus capitatus*(L.) Hoffm. & Link, *Tetraclinisarticulata* (Vahl.)Masters et *Daucus crinitus*Desf. contre les pathogènes de l'oranger *Citrus sinensis* dans la région de Tlemcen. Thèse de Doct. Ecologie et envir. Uni.Tlemcen, 144p.
- Tamesse, J. L., Messi, J., Silatsa-Soufo, E., Kambou, J., Tiago, A. B., Ndong, A.**
- Thamam RR., 1996** A Review of use and status of trees ans forests in Land Use systems in Somoa, Tango, Kiribati Tuvalu with recommendations for Future Action soiuth pacific Forestry developpement programme, Suva, Fiji.
- Teixeira.Duarte M.C., Mara Figueira G.et Sartoratto A.(2005).** Anticandida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 97.305-311
- Thomas, M.C., Happner, J.B., Woodruff, R.E., Weems, H.V., Steck, G.J. & Fasulo, T.R. (2001).** Mediterranean fruit fly, *Ceratitiscapitata* (Widemann) (Insecta :Diptera : Tephritiae). Florida Department of agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry ; and T.R. Fasulo, Entomology and Nematology Department, university of Florida, Gainesville, FL.

- Trease, E; et Evans, W.C .(1987).** Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). Journal of Medicine and scintific. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.
- Tucker,DPH., Wheaton, T.A &Muraro, R.P. (1994).** Citrus Tree Pruning Principales and Practices.Fact Sheet HS-144. Horticultural Sciences Department,
- Tzanakakis, M.E. & Koveos, D.S. (1986).**Inhibition of avarian maturation in the olive fruit fly under long photophase and an increase of temperature. Annals of the Entomological Society of America, 79. pp. 15-18.
- Van-Ee, S. (2005).** *La culture fruitière dans les zones tropicales.*Wageningen. variétés d'agrumes par *Ceratitis capitata* Wied.,1824 (Diptera ; Trypetidae) en fonction de l'exposition dans différents vergers de la région de Tizi-Ouzou.Mémoire d'Ingéniorat en écologie Animal. Université Moloud Mammeri de Tizi ouzou.
- Vayssiers J.F., Sinzogan A., et Bokonon-Granta A.(2008).** Les mouches des fruits du genre *Cératitis capitata* Diptera : Tephritidae en Afrique de l'Ouest ., IITA. Cirad. UPR Production fruitière, Montpellier., 4p.
- Vergoulas P., Mavrotas C., Varikou K.,Alexandrakis V., Prophetous D., Mickelas S., Kovaios D., 2002.** *Control of olive fruit fly (Bactrocera oleae Gmel) by bait application using Spinosad a Naturalyte Insect Control Product. Proceedings of the 6th International Symposium*
- Vernière, C., Navaro, L. Bové, JM. (2003).** Statut actuel des pathogènes des agrumes dans le Bassin méditerranéen. CIRAD-FLHOR, TA 50/PS4, 34398 Montpellier cedex 5, France. A Volume 12: August 2005- January 2006
- Viuda Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J et Perez Alvorez J.(2008).** Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon L.*), mandarin (*Citrus reticulate*), grape fruit (*Citrus paradise L.*) and orange (*Citrus sinensis L.*), essential oils Food control 19,1130-1138.
- Walter A ; Sam C., 2002.** Fruits of Oceania (Trans, P. Ferrar From fruits D'ocianie). ACIAR Monograph 85. Australian center for international Agricultural Research, Camberra, Australia.
- Wawrzyniak A, Górnicka M, Hamułka J, Gajewska M, Drywie M, Pierzynowska J. 2006** Phenols exhibit extensive diversity in *structure* and are

characterized by one ... acid), coumarins, flavonoids, stilbenes, condensed and *hydrolysable tannins*, lignans ;25:444–453.

Weems H., 1981: Mediterranean fruit *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Trypetidae). *Pep. Agric. Cumer, Dir. Plant. Industry. Entomol. Circ. Florida* (230), 12p.

Wiedemann, C.R.W. (1829). *Munus rectoris in Acadamia Christiana Albertina aditurus Analecta entomologica ex Museo Regio Havniesi maxime congesta profert inconibusque illustrat.* 60p. kiel.

Wilmsen P.K; Spada D.S and Salvador M., 2005. Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems.*J.Agric.Food Chem*, Vol.53, n°12, p.4757-4761.

Wong, T.T.Y., Mochizuki, N. et Nishimoto, J.I.(1984). Seasonal abundance of the Mediterranean and oriental fruit flies (Dip., Trypetidae) in the Kula area of Maui, Hawaii, *Environ. Entomol*, 13 : 140-145.

Worsham A.D, 1991. Allelopathic cover crops to reduce herbicide inputs. *Proceedings of Southern Weed Science Society* 44 : 58-69.

Vu Z.; Dahigren R. A., 2005. Evaluation of methods for measuring polyphenols in copper foliage.*J.Chem.Ecol.*26:21 19-2 140.

Zhiri A. (2006). Les huiles essentielle un pouvoir antimicrobien avéré *Nuta News. Science. Nutrition, Prévention et Santé.* Edité par la fondation pour le libre choix, 12,8.

Annexe 01 : milieux de culture

- PDA (Potato Dextrose Agar = gélose pomme de terre glucosé) :

Pour la préparation, laver et couper en petits morceaux 200g de pomme de terre. Les mettre dans 700 ml d'eau distillée et porter à ébullition, puis filtrer et compléter à 1 litre :

Glucose	20g
Agar	15g
Extrait de pomme de terre	

Annexe 02 : Préparation des réactifs:

1-Réactifs de Mayer:

Dissoudre 1.358 g de Hg C12 dans 60ml d'eau distillée;

Dissoudre 5g de KI dans 10ml d'eau distillée;

Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau distillée.

2-Réactifs de Wagner:

Dissoudre 1.2g d'iode I₂ dans 50ml d'eau distillée contenant 2.5g de iodure de potassium KI;
Chauffer pendant 5 minutes puis diluer jusqu'à 500ml d'eau distillée.

Annexe 03 : Préparation de l'étalon de dosages des polyphénols totaux :

A partir de la solution mère, nous avons préparé des dilutions de différentes concentrations :

15mg/l, 14mg/l, 13 mg/l, 12 mg/l, 11 mg/l, 10 mg/l, 9 mg/l, 8 mg/l, 7 mg/l, 6 mg/l, 5 mg/l, 4 mg/l, 3 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l.

- prendre 3ml de chaque concentration et ajouter 0,5ml du réactif de Folin Ciocalteu
- Laisser réagir pendant 3 minutes.
- Puis ajouter 2ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%.
- Mettre le mélange au Vortex et laisser incuber à l'obscurité pendant 1 heure.
- Lire l'absorbance à 650nm.

- **Préparation de l'étalon de dosage des flavonoïdes :**

À partir d'une solution mère de rutine 1mg/ml, on prépare des dilutions de différentes concentrations :

0,9mg/ml, 0,8mg/ml, 0,7mg/ml, 0,6mg/ml, 0,5mg/ml, 0,4mg/ml, 0,3mg/ml, 0,2mg/ml, 0,1mg/ml.

On prend 2ml de chaque concentration et on y ajoute 2ml (AlCl₃) à 2%, puis on les mélange au Vortex.

Après incubation de 15mn, on lit l'absorbance à 430nm.

Annexe 04 : Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 28 niveaux différents de Dose AET P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose AET P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	519.467	27	19.2395	44.60	0.0000
Intra-groupes	7.33333	17	0.431373		
Total (Corr.)	526.8	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes. Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 44.6007, est un ratio de

Annexe 05 :

Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 18 niveaux différents de Dose nbut P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose nbut P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	371.278	17	21.8399	21.71	0.0000
Intra-groupes	27.1667	27	1.00617		
Total (Corr.)	398.444	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes.

Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 21.7059, est un ratio de l'estimation inter-groupes par rapport à l'estimation intra-groupes. Comme la valeur de la probabilité pour le test F est inférieure à 0.05, il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de

mortalité d'un niveau de Dose nbut P1 à l'autre au niveau de confiance de 95.0%. Pour déterminer quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres, sélectionner Tests des étendues multiples dans la liste des options pour les tableaux.

Annexe 06 :

Le StatAdvisor

Cette procédure calcule une analyse de la variance à un facteur pour mortalité. Elle affiche divers tests et graphiques pour comparer les valeurs moyennes de mortalité pour les 15 niveaux différents de Dose tanin P1. Le test F dans le tableau de l'ANOVA teste s'il y a des différences significatives entre les moyennes. S'il y en a, les tests des étendues multiples vous disent quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres. Si vous pensez qu'il y a des points extrêmes, choisissez le test de Kruskal-Wallis pour comparer les médianes au lieu des moyennes. Les divers graphiques vous aident à juger de la signification pratique des résultats, ainsi qu'à vous permettre de détecter des violations possibles des hypothèses supposées pour l'analyse de la variance.

Tableau de l'ANOVA pour mortalité par Dose tanin P1

Analyse de variance

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	Niv. Sig.
Inter-groupes	311.867	14	22.2762	11.66	0.0000
Intra-groupes	57.3333	30	1.91111		
Total (Corr.)	369.2	44			

Le StatAdvisor

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mortalité en deux composants: un composant inter-groupes et un composant intra-groupes. Le ratio F, qui dans ce cas est égal à 11.6561, est un ratio de l'estimation inter-groupes par rapport à l'estimation intra-groupes. Comme la

valeur de la probabilité pour le test F est inférieure à 0.05, il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de mortalité d'un niveau de Dose tanin P1 à l'autre au niveau de confiance de 95.0%. Pour déterminer quelles moyennes sont significativement différentes les unes des autres, sélectionner Tests des étendues multiples dans la liste des options pour les tableaux.

:

سمحت لنا الدراسة البيوايكولوجية لذبالة الفواكه *Ceratitis capitata* في منطقة مغربية عدة نتائج التي أتت معرفة مواسم و مناطق توزعها. الفطريات الضارة المتعلقة بها، سمحت بتعريف ثمانية أنواع فطرية. (*Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp* et *Monilia sp*).

بالمقابل دراسة قدرة البرتقال على مقاومة هذه القطريات بينت أن المكافحة تبدأ بإفراز مركبات فينولية تركيبية (Tanins) ثم تليها مكونات فينولية أخرى (Flavonoides). دراسة خلاصة قشرة البرتقال و الزيوت الطيارة الخاصة بها على العزلات الفطرية و يرقات الذبابة و (*Ceratitis capitata*) أكدت نتائج المقاومة الطبيعية نتائج المقاومة الطبيعية للبرتقال و أظهرت أن المركبات الفينولية و الزيوت الطيارة تلعب دور هام لمقاومة الفطريات و الحشرات الضارة.

الكلمات المفتاحية: *Citrus sinensis* الفواكه *Ceratitis capitata* ، مركبات فينولية، زيوت طيارة، alléopathie .

Résumé

L'étude bio-écologique de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* attaquant les oranges de la région de Maghnia, a permis d'obtenir un certain nombre de résultats qui ont servi à connaître la biologie et la répartition spatio-temporelle de ce ravageur dans notre région.

L'étude de la mycoflore pathogène qui lui est associée d'autre part, nous a permis d'identifier huit genres fongiques (*Alternaria sp.*, quatre genres de *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp* et *Monilia sp*).

Par ailleurs, l'étude du pouvoir allélopathique de l'oranger montre que la lutte commence par la sécrétion des tanins, qui sont des substances constitutives, puis se poursuit par les flavonoïdes qui sont inductibles et qui présentent des teneurs élevées chez l'oranger, résultant des réactions chimiques ultérieures plus tardives chez les plantes.

L'étude de l'effet des extraits de l'écorce d'orange et de ses huiles essentielles sur les souches fongiques que nous avons isolées puis identifiées et sur les larves et l'adulte de *Ceratitis capitata* confirment nos résultats de la lutte naturelle de l'oranger qui montre que les composés phénoliques et les huiles essentielles jouent un rôle dans la défense de l'oranger contre les microorganismes.

L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure que l'oranger a un pouvoir allélopathique, lui permettant de se défendre contre ses agresseurs parasitologiques et microbiologiques en sécrétant des composés phénoliques en excès. Les extraits de zests d'oranges et leurs huiles essentielles testés ont une activité antifongique et une bonne activité insecticide sur tous les stades de la cératite, ils peuvent donc être utilisés en lutte biologique.

Mots-clés : *Citrus sinensis*; *Ceratitis capitata* ; composés phénoliques ; huile essentielle ; allélopathie.

Abstract:

The Bio-ecological study of the fruits' mosquito *Ceratitis capitata* in the region of Maghnia has given us to reach many results which allow the knowledge of seasons and regions of the distribution of this mosquito; the study of its harmful fungus allows us to define eight fungal types.

The study of the ability of orange to resist these funguses shows us that the combat starts with the secretion of Phenolic synthetic compounds (Tanins), and then comes other urging phenolic components.

The study of the oranges' extract and its specific essential oils on the fungal isolates and the mosquito's larvae and the mosquito its self confirms the results of the natural resistance of orange and shows that the phenolic compounds and the essential oils play a major role in the resistance of harmful funguses and insects.

Key words: *Citrus sinensis*; *Ceratitis capitata*, phenolic compounds, essential oils, allelopathy.