

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES DES FEUILLES DE CITRUS SUR L'ACTIVITÉ DES ADULTES DE *Phyllocnistis citrella* STANTON (*Lepidoptera* ; *Gracillariidae*)

B. LOTMANI, N. KOLAÏ, A. BERKANI, M. BOUZOUINA.

Université de Mostaganem. Laboratoire protection des végétaux. BP 300, Mostaganem 27000.

E-mail Labo-pv@univ-Mosta.dz.

RÉSUMÉ

L'analyse de certains facteurs observés dans le cadre de l'étude de la dynamique des populations de *Phyllocnistis citrella*, indique l'absence de contamination de l'insecte sur la première poussée de sève (pousses de printemps), bien que toutes les conditions soient favorables à son développement. Ceci semble dévoiler une résistance naturelle des *Citrus* aux attaques du ravageur à une période bien déterminée de l'année. Ce travail s'inscrit dans un programme de recherche sur les ravageurs des Citrus initié par le laboratoire de protection des végétaux. Un échantillonnage aléatoire est effectué hebdomadairement sur trois espèces citricoles : *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* et *Citrus clementina*. Pour chaque espèce et poussées de sève développées, sont prélevées des feuilles au hasard pour déterminer le niveau des contaminations et la teneur en composés phénoliques pendant toute l'année. Les résultats pour l'ensemble des espèces et pour toutes les poussées de sève, indiquent que les contaminations sont inversement proportionnelles à la teneur en composés phénoliques. En effet, à la baisse de ces derniers correspond une activité intense des adultes de *P. citrella*. Un gradient d'activités semble prévaloir ; c'est ainsi que le seuil de 3 mg/g de MF de composés phénoliques est la limite au dessus de laquelle sont observées de très faibles infestations considérées comme insignifiantes et n'ayant aucun impacte sur le végétal. Les résultats observés ont mis en évidence les capacités de résistance naturelle de la plante hôte et l'influence des composés phénoliques des feuilles de *Citrus* sur l'activité des adultes du phytophage.

Mots Clés : *Phyllocnistis citrella*, *Citrus*, poussée de sève, taux de contamination, résistance naturelle, composés phénoliques.

الملخص

تحليل بعض العوام الملاحظة في اطار دراسة ديناميكية مجتمعات حشرة *Phyllocnistis citrella* أظهرت غياب اصابة بالعدوى على الربيعي التبرعم. هذا يدل على وجود حماية طبيعية لأشجار الحمضيات ضد هذه الحشرة في فترة معينة من السنة. يتدمج هذا العمل المقدم في اطار برنامج بحث مسطر في مخر حماية النباتات تؤخذ عينات بكريفة عشوائية كل أسبوع من ثلاثة أصناف من الحمضيات (*Citrus sinensis*, *C. aurantium*, *C. clementina*). تأخذ بطريقة عشوائية أوراق الأشجار من كل صنف من الحمضيات خلال السنة لتحليلها حيث تستخرج منها نسب العدوى بالحشرة و تستخرج منها أيضا نسب المكونات الفينولية في هذه الأوراق خلال سنة كاملة. النتائج المحصل عليها من خلال هذه التحليلات تبين أن نسب العدوى بالحشرة و نسب المكونات الفينولية متعاكسة تماما أي انخفاض في نسب المكونات الفينولية تقابلها ارتفاع في نسب العدوى بالحشرة. تمثل نسبة 3 مغ MF الحد الأدنى حيث نلاحظ انخفاض في نسبة العدوى بالعدوى مع ارتفاع نسب / غ المكونات الفينولية. وهذه النتائج المحصل عليها توضح مدى قدرات الحمضيات في مقاومة الحشرة من خلال انتاج المكونات الفينولية.

الفتاحيح كلمات : *Phyllocnistis citrella* / نسب العدوى / المقاومة الطبيعية / مكونات الفينولية / الحمضيات

INTRODUCTION

La mineuse des agrumes est considérée comme étant un des ravageurs les plus importants des vergers citricoles. Les larves contaminent particulièrement les jeunes feuilles dont la surface est parfois totalement minée ; ceci a pour conséquence une diminution de la chlorophylle, avec pour corollaire une diminution des mécanismes de la photosynthèse. La vie larvaire de ce phytophage est strictement endophyte ce qui rend la lutte par les moyens chimiques problématique et souvent inefficace, d'où l'intérêt de rechercher d'autres moyens de lutte. L'étude de la dynamique des populations de *P. citrella* a mis en évidence l'absence de contaminations sur la première poussée de sève de l'année [1]. De même des travaux ont montré que des traitements effectués avec une solution issue des feuilles de *Citrus* des pousses de printemps (PS) avait une influence certaine sur le comportement des adultes du phytophage et qui s'est traduite par une sensible diminution des contaminations sur la deuxième et troisième poussée de sève [2]. Ceci semble indiquer que la plante synthétise des substances naturelles qui auraient une action sur l'insecte ce qui explique l'absence de contaminations. Ce constat fait, toutes les hypothèses convergeaient donc vers le système de défense naturel induit par les plantes. En effet, ces dernières produisent toute une gamme de composés dits composés secondaires capables d'éviter ou de limiter les dégâts causés par les phytophages. Ces composés peuvent inhiber une fraction des micro-organismes [3] et avoir, des effets toxiques, fongicides et antibiotiques [4]. Les mêmes composés peuvent viser un grand nombre d'espèces d'insectes nuisibles [5], d'où l'idée de mettre en évidence la relation pouvant exister entre la teneur en c. phénoliques des feuilles de *Citrus* et l'activité des adultes de *P. citrella*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Taux de contamination (échantillonnage)

Un échantillonnage aléatoire est effectué hebdomadairement dans un verger. Trois espèces citricoles ont fait l'objet d'étude : *Citrus sinensis*, *Citrus aurantium* et *Citrus clementina*.

Pour chaque espèce et pour chaque poussée de sève, sont prélevées 100 feuilles au hasard réparties à travers les quatre points cardinaux des arbres choisis. Les feuilles sont ensuite examinées sous loupe binoculaire afin de déterminer les taux d'infestations. Chaque feuille examinée portant un seul stade de l'insecte est considérée comme contaminée et de ce fait comptabilisée.

Analyses foliaire

a - Prélèvement des feuilles

Les prélèvements de jeunes feuilles sont effectués au hasard pour chaque espèce végétale et pour chacune des poussées de sève et cela dans la même parcelle que celle destinée à l'évaluation du taux de contamination.

b - Extraction

L'extraction des composés phénoliques s'est faite selon la méthode préconisée par RAMAMUTHY et MAITREKOMAS [6],

c - Dosage

La teneur en composés phénoliques est déterminée par la méthode dite AOAC [7]. Le dosage est effectué avec le réactif de Folin Cioaltea ; le principe est basé sur la réduction de l'acide phosphomolybdique en milieu alcalin, en présence des composés phénoliques pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 730 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage est établie avec l'acide gallique de 0 à 1 mg.ml⁻¹ et la teneur en phénols totaux est exprimée en équivalent acide gallique.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Première poussée de sève (pousses de printemps - PS₁).

La première poussée de sève a été en partie épargnée par les attaques du phytophage et cela pour l'ensemble des trois espèces végétales étudiées. En fait, c'est lorsque la teneur en composés phénoliques a baissé, que sont apparues les premières contaminations sur les orangers et les bigaradiers (figures 1- 2 - 3).

A la date du 11 mai, les orangers (*Citrus sinensis*) enregistrent un taux de contamination de 18 %, correspondant à 3,1 mg/g de MF de c. phénoliques soit le minimum absolu observé sur la première poussée de sève (printemps). De même, il semble qu'à 3,3 mg/g le niveau des infestations a baissé, enregistrant un taux de 13% le 25 mai. Sur les clémentiniers (*Citrus clementina*) et les bigaradiers (*Citrus aurantium*), les contaminations ont été insignifiantes les 18 et 25 mai, alors que la teneur en composés phénoliques a été supérieure à 3,1 mg/g (3,5 et 3,6) ; ceci laisse penser que pour la première poussée de sève le gradient d'activité des adultes de *P. citrella* se situe à 3,2 mg/g de MF, seuil au dessus duquel aucune présence de l'insecte n'est observée. Il faut signaler que lorsque 20% des feuilles de *Citrus* sont contaminées cela n'a aucune influence sur le développement du végétal [8] et, de ce fait, ce niveau d'infestation n'est pas considéré comme un seuil critique pour l'arbre.

Pousses rebelles (PR)

Les pousses rebelles apparaissent suite à un stress hydrique. Certains auteurs tels qu'EINHELLING [9 et 10], INDERRJIT et DEL MORAL [11] rapportent que dans cette situation précise, les teneurs en composés phénoliques sont importantes au niveau des feuilles. En fait cette présence de c. phénoliques a permis de

limiter les dégâts sur ces pousses, malgré des conditions idéales pour le développement de l'insecte.

Pour les orangers le niveau des infestations a varié de 11 à 32% pour des teneurs en c. phénoliques oscillant entre 4,6 et 6,6 mg/g de MF. Le taux de contamination moyen par prélèvement se situe à hauteur de 24,5% correspondant à une teneur moyenne de composés phénoliques de 5,42 mg/g de MF (figure 1). Le niveau élevé de ces derniers semble avoir influencé l'activité des adultes de l'insecte, ce qui s'est traduit par de très faibles infestations.

Les contaminations sur les bigaradiers ont varié de 2 à 32% pour des teneurs en c. phénoliques oscillant entre 3,2 et 5,4 mg/g. Le taux moyen de feuilles infestées est de l'ordre de 20,5%, pour une teneur moyenne en composés phénoliques de l'ordre de 4,6 mg/g de MF (figure 2).

Les niveaux d'infestation sur clémentiniers ont oscillé entre 2 et 22% avec des teneurs en composés phénoliques comprises entre 4,2 et 6,5 mg/g, pour des données moyennes de l'ordre de 13, 5% en ce qui concerne les contaminations et 5,6 mg/g de MF pour les composés phénoliques (figure 3).

Comparaison entre les espèces

On remarque selon les données consignées dans le tableau I que les plus faibles contaminations (13,5%) sont observées sur les clémentiniers mais pour des teneurs en c. phénoliques des plus élevées (5,6 mg/g de MF). Ceci met en évidence l'existence d'une relation entre l'activité des adultes de *P. citrella* et la présence de c. phénoliques. En effet le taux de contamination est inversement proportionnel à la teneur en c. phénoliques.

On peut observer que le niveau moyen des contaminations d'une manière générale est resté relativement bas, n'excédant pas la limite des 25%, du fait d'une teneur élevée de c. phénoliques.

Deuxième poussée de sève (pousses d'été - PS₂)

Pour les trois espèces, la teneur en c. phénoliques est élevée uniquement sur les échantillons provenant des toutes premières feuilles émises par le végétal. En effet il a été enregistré 6,1 - 4,6 et 6,1 mg/g de MF de c. phénoliques respectivement pour les orangers, clémentiniers et Bigaradiers (figures 1-2-3). Ceci montre que dans le cadre d'un développement normal du végétal, les premières feuilles émises tout au début sont riches en c. phénoliques.

Les taux de contaminations sur les orangers ont été très élevés variant de 69 à 99% (figure 1), pour des teneurs en c. phénoliques comprises entre 1,4 et 6,1 mg/g de MF. La comparaison entre les deux facteurs montre que pour un taux de contamination moyen de 87,8% correspond une moyenne en c. phénoliques de 2,67 mg/g de MF.

Le niveau des infestations sur les bigaradiers a varié de 74 à 100% tandis que les teneurs en c. phénoliques sont comprises entre 1 et 6,1 mg/g de MF (figure 2). La moyenne calculée pour tous les échantillons indique des taux de 94,22% et une teneur moyenne en c. phénoliques de l'ordre de 2,73 mg/g de MF.

La proportion de feuilles infestées par les adultes du phytophage sur les clémentiniers oscillent entre 56 et 96% alors que les teneurs phénoliques varient entre 1,2 et 4,6 mg/g (figure 3). Les moyennes par échantillon indiquent des valeurs de 73 % pour les contaminations et 2,48 mg/g de MF pour les c. phénoliques.

Comparaison entre les espèces

Les données consignées dans le tableau II montrent et confirment ce qui a été rapporté précédemment concernant le gradient d'activité des adultes de *P. citrella* par rapport à la teneur en c. phénoliques. En effet lorsque ces derniers sont inférieurs à 3 mg/g, l'activité des adultes du phytophage est importante et se caractérise par des

niveaux de contaminations très élevés. De même on remarque que le niveau des infestations est proportionnel à la teneur en c. phénoliques.

Troisième poussée de sève (pousses d'automne-PS₃)

D'une manière générale, on constate que pour les trois espèces de *Citrus*, pour des niveaux de contamination élevés correspondent de faibles teneurs en c. phénoliques.

Les taux d'infestation ont été très élevés sur les orangers indiquant une activité intense des adultes de *P. citrella* ; ils ont varié entre 78% et 98%, pour des teneurs en c. phénoliques comprises entre 1 et 1.7 mg/g (figure 1). De même en relève que pour des taux d'infestation moyens de 89.77% correspondent des teneurs moyennes en c. phénoliques de l'ordre de 1.43 mg/g de MF.

Il en est de même pour les bigaradiers dont les contaminations ont été aussi élevées que pour les orangers atteignant un maximum de 97% pour des teneurs en c. phénoliques variant entre 1.1 et 1.5 mg/g (figure 2). Le taux moyen de feuilles infestées s'est élevé à 92,44% correspondant à des teneurs moyennes en c. phénoliques de l'ordre de 1,38 mg/g de MF.

Par contre, les dégâts observés sur les clémentiniers ont été supérieurs à ceux notés sur les deux autres espèces citricoles avec un taux maximum de 99%. La présence des c. phénoliques a varié de 1,3 à 1,7 mg/g (figure 3). Les moyennes enregistrées pour les contaminations et les c. phénoliques ont été respectivement de 93,22% et 1,46 mg/g de MF.

Comparaison entre les espèces

Pour l'ensemble des espèces la teneur moyenne en composés phénoliques est inférieure à 1.5 mg /g de MF et cela pour des niveaux de contamination proches de 90% (tableau III). Comme

pour la seconde poussée de sève et comparativement à la première, on constate que lorsque la teneur des composés phénoliques est inférieure à 3 mg/g l'activité des adultes de l'insecte est très importante.

Comparaison entre les différentes poussées de sève de l'année

Les orangers présentent des taux de contaminations moyens de 4,45% pour les pousses de printemps, 87,80% pour les pousses d'été et 89,77% pousses d'automne, correspondant respectivement à des teneurs moyennes en composés phénoliques de l'ordre de 4,05 - 2,68 et 1,43 mg/g de MF (tableau IV). On note qu'à moins de 3 mg/gr de c. phénoliques l'activité des adultes du phytophage est à son maximum.

Si l'on prend en considération l'importance des dégâts observés sur les différentes poussées de sève des orangers, on remarque que l'activité des adultes a été insignifiante sur les pousses de printemps alors qu'elle est très importante sur les pousses d'été et d'automne, contrairement à la teneur en composés phénoliques dont l'évolution a suivi le sens inverse. Il semble donc que le taux de contamination est inversement proportionnel à la teneur en composés phénoliques. La comparaison des données sur les bigaradiers, montre le même constat observé sur les orangers ; la baisse des teneurs en composés phénoliques induit une activité très intense des adultes de *P. citrella* avec pour conséquence des niveaux d'infestation très élevés. Il est important de noter que le minimum des composés phénoliques observé a été enregistré sur les bigaradiers des pousses d'automne avec 1,38 mg/g de MF.

De même les données relevées sur les clémentiniers confirment celles notées pour les espèces citricoles citées précédemment, mettant ainsi en exergue l'influence des composés phénoliques sur l'activité des adultes de l'insecte. D'une manière générale le tableau IV montre claire-

ment que les taux de contamination observés sont insignifiants sur les pousses de printemps devenant très importants sur les pousses d'été et d'automne et cela contrairement à la teneur en composés phénoliques dont la tendance est à la baisse d'une poussée de sève à l'autre.

CONCLUSION

Pour l'ensemble des espèces et pour toutes les poussées de sève de l'année, les contaminations sont inversement proportionnelles à la teneur en composés phénoliques. En effet, à la baisse de ces derniers correspond une activité intense des adultes de *P. citrella*. Un gradient d'activités semble prévaloir ; c'est ainsi que le seuil de 3 mg/g de MF de c. phénoliques est la limite au dessus de laquelle on observe de très faibles infestations. Selon FRENKEL [12] tous ces composés phénoliques impliqués sont issus du métabolisme secondaire. Il est maintenant reconnu que les plantes ont un métabolisme sophistiqué et utilisent des composés avec une basse toxicité intrinsèque pour se défendre vis-à-vis des insectes [13]. Le phénomène permet à la plante de diminuer les dégâts en agissant sur le comportement du ravageur sur plusieurs aspects tels que : l'alimentation, l'oviposition, le développement, la reproduction, les communications phéromonales et kairomonales [14], ceci a pour effet de diminuer les probabilités de l'insecte à survivre jusqu'à un âge reproducteur, d'agir sur son développement et sa fertilité et même de moduler sa dynamique des populations [15]. Les résultats obtenus montrent clairement l'influence des c. phénoliques sur l'activité des adultes de *P. citrella* se traduisant par de faibles contaminations et confirment les propos rapportés par REES et HARBONE [16] qui soulignent que la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro-organismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques.

Références bibliographiques

- [1] BERKANI A. et LOTMANI B., 2000 - Relation of the rate of proteins of différent species leaves of citrus with their contamination by *Phyllocnistis citrella* (*Lepidoptera* : *gracillariidae*). Seventh Arab Congress of Plant Protection 22-26 octobre 2000 Amman Jordan.
- [2] BERKANI A. et LOTMANI B., 2003 - Contribution à l'étude du développement des phénomènes naturels de résistance des *Citrus* aux attaques de *Phyllocnistis citrella* Stainton (*Lepidoptera* ; *Gracillariidae*). 1^{er} Salon International des Produits Phytosanitaires et du Matériel Végétal Semences et Plantes. Phytosem - Alger du 9 au 11 décembre 2003.
- [3] SHEFFER, T.C and COWLING E.B., 1966 - Naturel résistance of wood to microbial détérioration. A annual review of phytopathology. 4: pp147- 170.
- [4] MCKEY, D., 1978 - Phénolic content of végétation in two African rain forests : ecological implications». Science 202. pp 61-64.
- [5] WHITTAKER R.H, FEENY P.P., 1971 - Allelochemics: chemical inter-actions between species. Science. pp 171, 757, 770.
- [6] RAMAMUTHY M.S, MAITREKOMAS., 1984 - HPLC détermination of phénolic acid in potata tuber during wound healing. J. AGRIC. Food, pp 569-572.
- [7] ANONYME., 1975 - Association of officiais' analytical chemist (AOAC). Appliqué aux liqueurs (AOAC).
- [8] HUANG MD, LI SX; 1989 - The damage and économie threshold of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton to Citrus. Guangzhou, Guangdong, Chine, académie book and periodical press. pp. 84-89.
- [9] EINHELLING ; 1989 - Interactive effets of allelochemicals and environnemental stress. In Phytochemical Ecology, Mycotoxins, and Insect pheromone and Allomons, (Chow, CA, Waller, G.R., eds). pp.101 - 116 - Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Séries N° 9. Taipei, ROC.
- [10] EINHELLING ; 1996 - Interactions involving allelopathy in cropping System. Agron. J. pp 88, 886, 893.
- [11] INDERJIT et DEL MORAL. R ; 1997 - Is separating allelopathy from resource compétition-realistic. Bot. Rev : 63, pp. 221 - 230.
- [12] FRENKEL G.S; 1959 - The raison d'être of secondary plant substances. Science : 129, pp 1466-1470.
- [13] ROITBERG, B. D., ISMAN, M. B., 1992 - Insect chemical ecology : an evolutionary approach. Chapman and Hall, New York.
- [14] LEWIS, W. J., TUMLINSON, J. H., 1988 - Host détéction by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. Nature : 331, pp. 257-259.
- [15] SCRIBER, J.M, AYERS, M.P., 1985 - ISI atlas of science : animal and plant science : 1, pp. 117.
- [16] REES SB and HARBONE JB., 1985 - The rôle of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. Phytochem : 24, pp. 2225 - 2231.

Tableau I : Comparaison entre les moyennes des taux de contamination et la teneur en c. phénoliques des feuilles des pousses rebelles.

Espèces	Oranger (<i>Citrus sinensis</i>)	Bigaradier (<i>Citrus aurantium</i>)	Clémentinier (<i>Citrus clementina</i>)
Moyennes			
Teneur en c. phénoliques	5.43 mg/g MF	4.6 mg/g MF	5.6 mg/g MF
Taux de contamination	20.5 %	24.5 %	13.5%

Tableau II : Comparaison entre les moyennes des taux de contamination et la teneur en c. phénoliques des feuilles de la seconde poussée de sève.

Espèces	Oranger (<i>Citrus sinensis</i>)	Bigaradier (<i>Citrus aurantium</i>)	Clémentinier (<i>Citrus clementina</i>)
Moyennes			
Teneur en c. phénoliques	2.67 mg/g MF	2.73 mg/g MF	2.48 mg/g MF
Taux de contamination	94.22 %	87.8 %	73%

Tableau III : Comparaison entre les moyennes des taux de contamination et la teneur en c. phénoliques des feuilles de la troisième poussée de sève.

Espèces	Oranger (<i>Citrus sinensis</i>)	Bigaradier (<i>Citrus aurantium</i>)	Clémentinier (<i>Citrus clementina</i>)
Moyennes			
Teneur en c. phénoliques	1.43 mg/g MF	1.38 mg/g MF	1.46 mg/g MF
Taux de contamination	89.77%	92.44%	93.22%

Tableau IV : Teneur moyenne en c. phénoliques par espèce et par poussée de sève.

Espèces	PS ₁		PS ₂		PS ₃	
	Taux. C (%)	C.phénoliques (mg/g MF)	Taux. C (%)	C.phénoliques (mg/g MF)	Taux. C (%)	C.phénoliques (mg/g MF)
Oranger	4.45	4.05	87.80	2.67	89.77	1.43
Bigaradier	1	4.3	94.22	2.73	92.44	1.38
Clémentinier	0,45	4.7	73	2.48	93.22	1.46

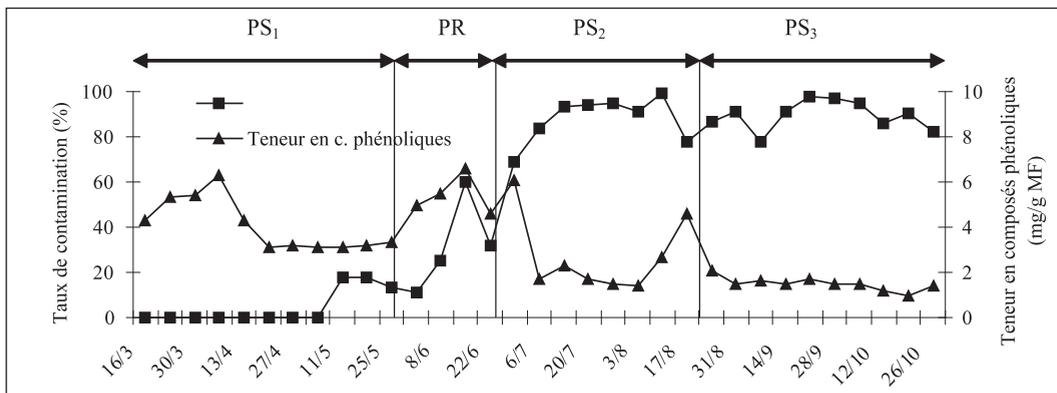


Figure 1 : Interaction entre le taux de contamination et la teneur en composés phénoliques (Orangers).

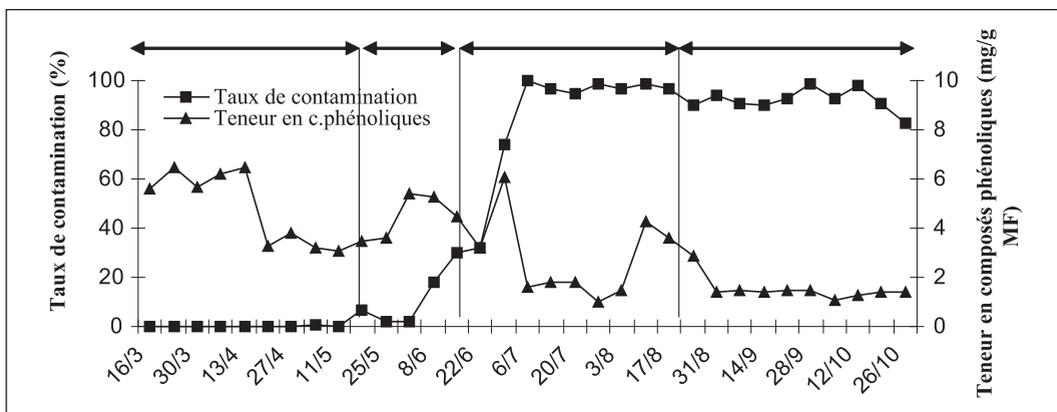


Figure 2 : Interaction entre le taux de contamination et la teneur en composés phénoliques (Bigaradiers).

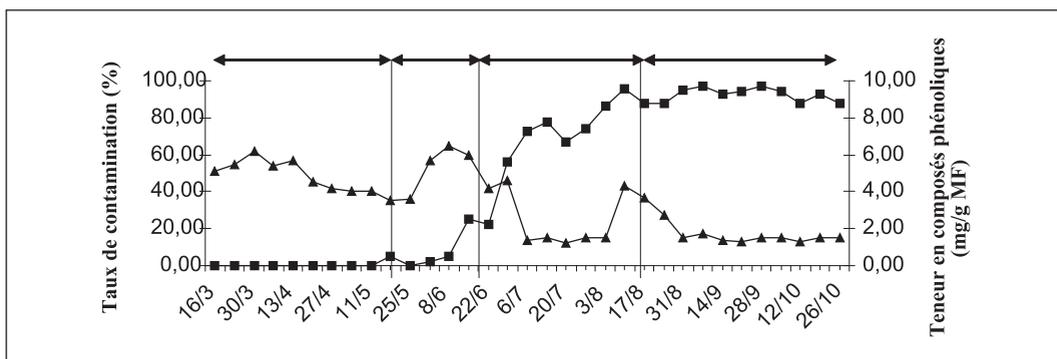


Figure 3 : Interaction entre le taux de contamination et la teneur en composés phénoliques (Clémentiniers).